

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Porzines Circovirus Typ 2 (PCV2) –
Querschnittsuntersuchung über das Vorkommen
von Virämie und Ausscheidung bei Sauen
aus einem Bestand ohne PCV2-Impfung

von Bettina Beuter

aus Tübingen

München 2018

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Krankheiten des Schweines

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann

Mitbetreuung durch: Dr. Matthias Eddicks

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter:	Univ.-Prof. Dr. Mathias Ritzmann
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. Walter Hermanns

Tag der Promotion: 27. Juli 2018

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Porzines Circovirus Typ 2	3
1.1.	Eigenschaften	4
1.2.	Entwicklung	5
1.3.	Seroprävalenz	5
2.	PCV2-Infektion	7
2.1.	Ausscheidung und Übertragung	7
2.2.	Infektion	9
2.3.	Pathogenese	11
2.4.	PCV2-assoziierte Erkrankungen	12
2.5.	Impfung	15
3.	Diagnostik	17
3.1.	PCR	17
3.2.	Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assay (ELISA)	18
3.3.	In-Situ-Hybridisierung	19
3.4.	Immunhistochemie	20
III.	MATERIAL UND METHODEN	21
1.	Anzeige des Tierversuchsvorhabens	21
2.	Arbeitshypothesen	21
3.	Versuchsaufbau	21
3.1.	Studienbetrieb	21
3.2.	Studienpopulation	23
4.	Probenentnahme	24
4.1.	Blutproben	24
4.2.	Speichelproben	24
4.3.	Kotproben	25

5.	Diagnostik	25
5.1.	Molekularbiologische Diagnostik.....	25
5.2.	Serologische Diagnostik	27
6.	Statistik	27
IV.	ERGEBNISSE	29
1.	Studienpopulation.....	29
2.	Probenauswertung	31
2.1.	Blutproben	31
2.2.	Speichelproben	31
2.3.	Kotproben	31
3.	Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchungen	32
3.1.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung	32
3.1.1.	Ergebnisse der Untersuchungsmaterialien in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe	32
3.1.1.1.	Serum	32
3.1.1.2.	Speichel.....	33
3.1.1.3.	Kot.....	34
3.1.2.	Ergebnisse der Untersuchungsmaterialien in Abhängigkeit von der Wochengruppe	35
3.1.2.1.	Serum.....	37
3.1.2.2.	Speichel.....	38
3.1.2.3.	Kot.....	38
3.2.	Ergebnisse der serologischen Untersuchung	39
3.2.1.	Ergebnisse der serologischen Untersuchung in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe	39
3.2.2.	Ergebnisse der serologischen Untersuchung in Abhängigkeit von der Wochengruppe	39
3.2.3.	Ergebnisse der PCV2-DNA positiven Untersuchungsmaterialien in Abhängigkeit des IgG-Antikörperstatus der Sauen	42

V.	DISKUSSION	43
1.	Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen.....	43
1.1.	Nachweise von PCV2-DNA bei Sauen.....	43
1.1.1.	Einfluss der Paritätsgruppe auf die Nachweise von PCV2-DNA.....	45
1.1.2.	Einfluss der Wochengruppe auf die Nachweise von PCV2-DNA.....	50
2.	Ergebnisse der serologischen Untersuchungen	51
2.1.	Seroprävalenz der Sauen.....	51
2.1.1.	Seroprävalenz und Paritätsgruppe.....	52
2.1.2.	Seroprävalenz und Wochengruppen	53
3.	PCV2-DNA Nachweise in Abhängigkeit der Seroprävalenz.....	54
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	57
VII.	SUMMARY	59
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	61
IX.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	81
X.	TABELLENVERZEICHNIS.....	83
XI.	DANKSAGUNG	85

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

µl	Mikroliter
AF	Abferkelung
AS	Altsauen
Bp	Basenpaare
Ct	cycle threshold
DNA	deoxyribonucleic acid
ELISA	enzyme-linked-immunosorbent-assay
EU	ELISA-Units
g	Vielfaches der Erdbeschleunigung (G-Kraft)
HT	hochtragende Sauen
IgG	Immunglobulin G
IgM	Immunglobulin M
JS	Jungsauen
KI	Konfidenzintervall
LT	Lebenstag
LW	Lebenswoche
Max	Maximum
Min	Minimum
min	Minuten
ml	Milliliter
MW	Mittelwert
nm	Nanometer
nM	Nanomolar
NT	niedertragende Sauen
OD	optical density
OR	odds ratio
ORF	open reading frame
p. i.	post infectionem
p. p.	post partum
PCR	polymerase chain reaction
PCV	Porzines Circovirus
PCV2-ED	PCV2 enteric disease
PCV2-LD	PCV2 lung disease
PCV2-RD	PCV2 reproductive disease
PCV2-SD	PCV2 systemic disease
PCV2-SI	PCV2 subclinical infection
PCVD	porcine circovirus diseases

PDNS	porcine dermatitis and nephropathy syndrome
PG	Paritätsgruppe
PK-15	porcine kidney 15 cells
PMWS	postweaning multisystemic wasting syndrome
PNP	proliferative necrotising pneumonia
PPS	primipare Sauen
PRDC	porcine respiratory disease complex
PRRSV	porcine reproductive and respiratory syndrome virus
QS	Jungsauen in der Quarantäne
RT-PCR	real time polymerase chain reaction
SD	standard deviation

I. EINLEITUNG

Das porcine Cirovirus Typ 2 (PCV2) zählt zu den wichtigsten viralen Krankheitserregern in der Hausschweinpopulation und gilt als ubiquitär verbreitet (SEGALÉS et al., 2005a; OPRIESSNIG et al., 2007; BAEKBO et al., 2012). Die mit PCV2 im Zusammenhang stehenden Syndrome und Erkrankungen werden als porcine circovirus diseases (PCVD) zusammengefasst (SEGALÉS, 2012).

Eine PCV2-Infektion verläuft häufig subklinisch (HARDING, 2004; SEGALÉS, 2012) und kann zu persistent infizierten Tieren führen (MAGAR et al., 2000a). Zum Schutz vor einer klinisch relevanten PCV2-Erkrankung stellt die Impfung gegen PCV2 ein bewährtes Mittel dar (MARTELLI et al., 2011). Eine gute Impfpraxis führt nicht nur zu einer Verkürzung der virämischen Phase und zu einer Herabsenkung der Viruslast im Blut (KIXMÖLLER et al., 2008) sondern auch zu einer Senkung der PCV2-Prävalenz innerhalb der geimpften Herden (DVORAK et al., 2016). Der Versuch der Eradikation von PCV2 durch Massenimpfungen war bis dato jedoch erfolglos (FENG et al., 2014). Hohe PCV2-Seroprävalenzen in Schweinebeständen (SIBILA et al., 2004) und die Vielzahl der möglichen Übertragungswege des Virus (ROSE et al., 2012) lassen vermuten, dass PCV2 endemisch in Sauenherden zirkuliert. In der Literatur ist die vertikale PCV2-Infektion der Ferkel durch die Muttersauen beschrieben (GERBER et al., 2012). Um weitere Informationen über die zentrale Rolle der vertikalen Übertragung von PCV2 zu erlangen, sind Untersuchungen von Muttersauen zwingend notwendig.

In der vorliegenden Studie soll der PCV2-Status von Sauen in den jeweiligen Wochengruppen untersucht werden. Hierzu werden Serum-, Speichel- und Kotproben der Sauen auf das Vorhandensein von PCV2-DNA untersucht. Zusätzlich wird die Seroprävalenz PCV2-spezifischer Antikörper der Sauen ermittelt. Der Studienbetrieb in Nordrhein-Westfalen ist ein Jungsauenvermehrer mit einer Stammherde von 400 Muttersauen ohne klinische Anzeichen von PCVD. Im Betrieb wird keine PCV2-Impfung eingesetzt. Ziel ist es,

neue Erkenntnisse über die Aufrechterhaltung einer PCV2-Infektion zu erlangen, um daraus geeignete Strategien sowie präventive Maßnahmen zur Verhinderung der vertikalen Übertragung zu entwickeln.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Porzines Circovirus Typ 2

Erstmalig nachgewiesen wird das porcine Circovirus (PCV) von TISCHER et al. (1974) im Jahre 1974. Die Forschungsgruppe vergleicht das als Kontaminant in Zellkulturen (Schweinenierenzelllinie PK-15) entdeckte Virus aufgrund seiner Ähnlichkeit im Elektronenmikroskop mit den Picorna- und Parvoviren (TISCHER et al., 1974). Eine genauere Charakterisierung des neuen Virus gelingt TISCHER et al. (1982) im Jahr 1982. Da die Forscher ausschließlich bei Schweinen Antikörper gegen das Virus nachweisen können und es eine zirkuläre DNA besitzt, erhält es den Namen porcines Circovirus (PCV) (TISCHER et al., 1982). In den 90er Jahren treten in den USA, Kanada und Europa erstmals klinische Fälle im Zusammenhang mit PCV auf (HARDING und CLARK, 1997; SEGALÉS et al., 1997).

In Kanada gelingt ELLIS et al. (1998) die Virusisolierung aus Gewebe von fünf bis zwölf Wochen alten Schweinen, die vom postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) betroffen sind. Das isolierte Virus wird als Circovirus-ähnlich beschrieben und bekräftigt den vermuteten Zusammenhang zwischen PCV und dem Auftreten des PMWS (ELLIS et al., 1998). MEEHAN et al. (1998) vergleichen die Nukleotidsequenzen der PK-15 Zellkultur Isolate mit den Isolaten der PMWS-betroffenen Schweine. Die Abfolge der Nukleotide zeigt eine Übereinstimmung von unter 80 %, woraufhin die Autoren eine neue Bezeichnung vorschlagen: das ursprüngliche Virus wird von nun an als porcines Circovirus Typ 1 (PCV1) und das mit PMWS in Verbindung gebrachte Virus als porcines Circovirus Typ 2 (PCV2) benannt (MEEHAN et al., 1998). Seit 1995 werden die porcinen Circoviren zur Familie der Circoviridae gezählt (LUKERT et al., 1995). Als weitere Unterteilung werden die Circoviridae den Gattungen Cyclovirus und Circovirus zugeordnet, zu letzterer zählt das porcine Circovirus mit den Spezies PCV1 und PCV2 (MEEHAN et al., 1998; ROSARIO et al., 2017).

Die Differenzierung der einzelnen Genotypen basiert auf dem Vergleich der ORF2-Sequenzen (FRANZO et al., 2015a). Nach anfangs unterschiedlichen Bezeichnungen für die verschiedenen PCV2-Genotypen führen SEGALÉS et al.

(2008) im Jahr 2008 als Mitglieder des europäischen Konsortiums der PCVD folgende einheitliche Betitelung für die Genotypen ein: PCV2a, PCV2b und PCV2c. OLVERA et al. (2007) unterteilen PCV2a in fünf Cluster (PCV2a 2A-E) und PCV2b in drei Cluster (PCV2b 1A-C). Der Genotyp PCV2b-1C wird in den USA zunächst als mutant-PCV2b bezeichnet, bis er im Jahr 2015 einheitlich als Genotyp PCV2d benannt wird (XIAO et al., 2012; FRANZO et al., 2015a; XIAO et al., 2015). Mithilfe des Neighbour-Joining-Verfahrens und der Maximum-Likelihood-Methode unterteilen XIAO et al. (2015) PCV2d in die Untergruppen PCV2d-1 und PCV2d-2. Durch modernere Technologien und automatisierte Sequenzierungsverfahren entwickelt sich der phylogenetische Stammbaum von PCV2 kontinuierlich weiter. Bei der Analyse von über 1100 ORF2 PCV2-Sequenzen präsentiert sich den Wissenschaftlern ein Genotyp, der sich wesentlich von allen bisher bekannten Genotypen unterscheidet und den die Wissenschaftler fortan als PCV2e bezeichnen (DAVIES et al., 2016).

1.1. Eigenschaften

PCV2 ist ein unbehülltes Virus mit einer zirkulär geschlossenen Einzelstrang-DNA (TISCHER et al., 1982). Das Kapsid besteht aus 60 ikosaedrisch angeordneten Untereinheiten (CROWTHER et al., 2003). Der Durchmesser wird, abhängig von Untersuchungsergebnissen der Autoren, mit 17 nm (TISCHER et al., 1982) beziehungsweise 20,5 nm (CROWTHER et al., 2003) angegeben. Damit zählt es zu den kleinsten Viren, die sich selbständig in einer Säugetierzelle vermehren können (MANKERTZ et al., 2004; ALLAN et al., 2012). PCV2 verfügt über eine sehr kompakte Genomstruktur (MANKERTZ et al., 2004). Das Genom umfasst 1768 Nukleotide und besitzt elf open reading frames (ORF) (HAMEL et al., 1998). Das ORF1 kodiert für die Proteine Rep und Rep', welche die Replikation initiieren (FAUREZ et al., 2009). Das Strukturprotein des Kapsids wird vom ORF2 kodiert, während das ORF3 ein Protein kodiert, das an der virus-induzierten Apoptose der Zelle beteiligt ist und eine wichtige Rolle in der viralen Pathogenese einnimmt (NAWAGITGUL et al., 2000b; LIU et al., 2005; LIU et al., 2006).

1.2. Entwicklung

PCV2 unterliegt einer genomischen Entwicklung, die sich vor allem durch die weltweite Veränderung der Prävalenz der Genotypen bemerkbar macht (GUO et al., 2010; KARUPPANNAN und OPRIESSNIG, 2017). Aus retrospektiven Studien geht hervor, dass bis Anfang des Jahres 2000 PCV2a der am häufigsten vorkommende Genotyp bei klinisch erkrankten Schweinen darstellt (ALLAN et al., 2012). Im Zeitraum 2003 bis 2005 ändert sich die Prävalenz der Genotypen zugunsten von PCV2b, dessen Nachweise häufig mit schweren PCVD-Ausbrüchen verbunden sind (GAGNON et al., 2007; CARMAN et al., 2008; WIEDERKEHR et al., 2009). Auch in China detektieren Forscher aus Proben der Jahre 2004 bis 2008 vermehrt den Genotyp PCV2b (GUO et al., 2010). Der Genotyp PCV2c wird erstmals in einer retrospektiven Studie in dänischen Proben aus den 80er Jahren nachgewiesen (DUPONT et al., 2008). Ein weiterer PCV2c-Nachweis gelingt FRANZO et al. (2015b) in Blutproben brasilianischer Wildschweine. In China untersuchen GUO et al. (2010) die genetische Varianz von PCV2 in lymphatischem Gewebe, Organen und Blutproben von PMWS-betroffenen Schweinen. Dabei identifizieren die Forscher einen neuen Genotyp und bezeichnen ihn als PCV2d (GUO et al., 2010). In Amerika wird diese neue Virusvariante erstmals im Jahr 2012 beschrieben und als mutant-PCV2b bezeichnet (OPRIESSNIG et al., 2013). Auch in Deutschland und Korea (EDDICKS et al., 2015; KWON et al., 2017) wird die neue Virusvariante entdeckt und im Jahr 2015 einheitlich als PCV2d bezeichnet (FRANZO et al., 2015a). PCV2d scheint sich als vorherrschender Genotyp zu etablieren und wird in China und in den USA inzwischen häufiger diagnostiziert, als der einst dominierende Genotyp PCV2b (XIAO et al., 2016; JIANG et al., 2017). Aufgrund systematischer Sequenzierung des gesamten Virusgenoms gelingt in den USA die Identifikation eines neuen Genotyps, der die Bezeichnung PCV2e erhält (DAVIES et al., 2016).

1.3. Seroprävalenz

Weltweit ist eine hohe Seroprävalenz von PCV2 in Schweinebeständen beschrieben (MAGAR et al., 2000b; FINLAISON et al., 2007; RAMIREZ-MENDOZA et al., 2009). In einer Studie aus Mexiko sind 59 % der 659 untersuchten Blutproben aus den Jahren 1972 bis 2000 seropositiv (RAMIREZ-MENDOZA et al.,

2009). Dabei zeigt sich, dass der Anteil seropositiver Blutproben im Laufe der Zeit von zunächst 27 % (1972-1979) auf 72 % (1990-2000) ansteigt (RAMIREZ-MENDOZA et al., 2009). Zu ähnlichen Ergebnissen gelangt eine kanadische Arbeitsgruppe nach der retrospektiven Untersuchung von Blutproben von Schlachtsauen aus den Jahren 1985, 1989 und 1997 (MAGAR et al., 2000b). Während 1985 lediglich 13,6 % der Blutproben PCV2-seropositiv sind, werden 1989 bereits 72 % seropositive Sauen verzeichnet und 1997 können die Forscher bei 66,1 % PCV2-Antikörper nachweisen (MAGAR et al., 2000b). In Australien untersuchen FINLAISON et al. (2007) archivierte Seren von 208 Sauen aus dem Jahr 1995 und weisen in 80 % der Seren PCV2-spezifische Antikörper nach.

Europäische Untersuchungen spiegeln diese Zahlen wider (WALKER et al., 2000). In einer retrospektiven Studie vergleichen WALKER et al. (2000) Blutproben nordirischer Schweine aus verschiedenen Jahren und verzeichnen ebenfalls einen Anstieg PCV2-Antikörper-positiver Schweine. Während 1973 bzw. 1981 je 69,1 % bzw. 61,3 % der Schweine PCV2-Antikörper vorweisen, sind die untersuchten Blutproben aus dem Jahr 1999 zu 92,1 % PCV2-seropositiv (WALKER et al., 2000). Ebenfalls hohe Seroprävalenzen von 93,4 % verzeichnet eine russische Arbeitsgruppe nach der Untersuchung von 392 Blutproben von elf bis 34 Wochen alten Schweinen aus 35 verschiedenen Farmen (KUKUSHKIN und OKOVYTAYA, 2012).

In der Literatur sind in Sauenherden hohe PCV2-Antikörper Prävalenzen von bis zu 100 % beschrieben (DIAS et al., 2013). In der Studie von DIAS et al. (2013) erfolgt die Blutentnahme bei den Sauen bis zum siebten Tag vor der Besamung und erneut zwei Tage nach der Geburt der Ferkel. In den USA weisen laut einer Studie von SHEN et al. (2010) 96,8 % der Sauen in der Abferkelung PCV2-Antikörper im Serum auf. Nach einer retrospektiven Untersuchung von Blutproben aus den Jahren 2000 bis 2005 liegt die Seroprävalenz in spanischen Sauenherden bei 93 % bis 100 % (LOPEZ-SORIA et al., 2010). Demgegenüber stehen die Ergebnisse der Studie von EDDICKS et al. (2016), in der 39 von 198 Sauen in der Abferkelung (19,7 %) PCV2-Antikörper im Serum aufweisen.

2. PCV2-Infektion

2.1. Ausscheidung und Übertragung

PCV2 wird über verschiedene Se- und Exkrete ausgeschieden (KRAKOWKA et al., 2000; BOLIN et al., 2001; SHIBATA et al., 2003; SIBILA et al., 2004; GERBER et al., 2012; ROSE et al., 2012). SEGALÉS et al. (2005b) quantifizieren in einer Untersuchung mittels TaqMan-PCR die Virusmengen in verschiedenen Probenmaterialien (Nasen-, Tonsillen-, Tracheobronchial-, Harn-, Kottupfer sowie Serum) heranwachsender Schweine bis zum fünften Lebensmonat. Die höchsten Virusmengen sind in den Proben der Tracheobronchialtupfer, gefolgt von Serum, Tonsillen-, Nasen-, Kot-, und zuletzt Harntupfern zu verzeichnen (SEGALÉS et al., 2005b). Mit Ausnahme der Tonsillentupfer sind in den Probenmaterialien der älteren Schweine ($\geq 1,5$ Monate alt) höhere Virusmengen nachweisbar als in denen der jüngeren Artgenossen ($< 1,5$ Monate alt) (SEGALÉS et al., 2005b). In einer weiteren Untersuchung vergleichen MCINTOSH et al. (2008) die über den Kot ausgeschiedene Virusmenge zwischen einer an PCVD-erkrankten und einer gesunden Herde sowie innerhalb der jeweiligen Produktionsstufen. Die höchste Virusmenge in der an PCVD-erkrankten Herde ermitteln MCINTOSH et al. (2008) in den Kotproben von sieben bis zwölf Wochen alten Tieren während in der gesunden Herde die Mastschweine und Jungsauen die höchsten Virusmengen ausscheiden. Ebenfalls hohe Mengen von PCV2-DNA ermitteln MONROY et al. (2015) in den Nasen- und Vaginaltupfern von 135-155 Tage alten und ungeimpften Jungsauen. DVORAK et al. (2013) untersuchen die PCV2-DNA Ausscheidung im Speichel, Kot sowie im Kolostrum von Sauen in der Abferkelung. In 80 % der Speichelproben, 42 % der Kotproben und 76 % der untersuchten Kolostrumproben gelingt ein PCV2-DNA Nachweis (DVORAK et al., 2013). Demgegenüber stehen die Ergebnisse einer deutschen Studie, die eine geringe PCV2-DNA Ausscheidung über Speichel (0,5 %), Kot (0,5 %) und Harn (0,6 %) von Sauen in der Abferkelung feststellen (EDDICKS et al., 2016). Eine gleichzeitige Infektion mit PCV2 und dem *porcine reproductive and respiratory syndrome virus* (PRRSV) führt bei heranwachsenden Schweinen, verglichen mit einer alleinigen PCV2-Infektion, zu einer erhöhten PCV2-DNA Ausscheidung in oralen und nasalen Sekreten sowie im Kot (SINHA et al., 2011).

Die Übertragung von PCV2 kann sowohl auf horizontalem (BOLIN et al., 2001; SHIBATA et al., 2003; DUPONT et al., 2009; CHIOU et al., 2011) als auch auf vertikalem (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013) Weg erfolgen.

In erster Linie gelingt die horizontale Übertragung von PCV2 bei Schweinen innerhalb einer Bucht sowie durch Kontakt von Rüssel zu Rüssel (DUPONT et al., 2009). Für ROSE et al. (2012) stellt dieser Kontakt mit ausgeschiedenen Se- und Exkreten den effizientesten Übertragungsweg von PCV2 innerhalb einer Bucht dar. Verstärkt wird diese Aussage durch die Studie von BOLIN et al. (2001) die zeigt, dass das über Se- oder Exkrete ausgeschiedene PCV2-Virus auch 42 Tage p. i. noch infektiös sein kann. Dazu stallen die Forscher seronegative Schweine zu Schweinen, die seit 42 Tagen mit PCV2 infiziert sind, woraufhin es innerhalb von drei Wochen zur Serokonversion der zuvor seronegativen Kontaktschweine kommt (BOLIN et al., 2001). In einer weiteren Untersuchung zeigen DVORAK et al. (2013), dass PCV2-DNA trotz gründlicher Reinigung und Desinfektion der Abferkelbuchten nicht vollständig zu beseitigen ist. Des Weiteren kann eine PCV2-Übertragung durch indirekte Vektoren wie beispielsweise Impfstoffe, Personen oder die Luft nach Meinung der Forscher nicht ausgeschlossen werden (DUPONT et al., 2009; ROSE et al., 2012). In der Umwelt zeigt sich PCV2 als äußerst stabil und verfügt über eine hohe Resistenz gegenüber Reinigungs- und Desinfektionsmittel, trockener Hitze sowie ultravioletten Strahlen (SHIBATA et al., 2003; KIM et al., 2009; ROSE et al., 2012).

Die vertikale PCV2-Übertragung von der Muttersau auf ihre Ferkel wird in einer Studie aus Nordamerika analysiert, bei der präkolostral gewonnenes Serum von 499 Ferkeln mittels PCR auf PCV2-DNA untersucht wird (SHEN et al., 2010). 39,9 % der Ferkel sind laut dieser Studie bereits vor Kolostrumaufnahme virämisch (SHEN et al., 2010). Drei Jahre später ermitteln DVORAK et al. (2013) bei 63 % der Ferkel vor Kolostrumaufnahme PCV2-DNA im Serum. Neben der Übertragung *in utero* (DVORAK et al., 2013) stellt auch die Aufnahme von Kolostrum und Milch eine mögliche Übertragungsquelle für die Ferkel dar (GERBER et al., 2012). MADSON et al. (2009) können in experimentellen Untersuchung nachweisen, dass eine Besamung der Sau mit PCV2b-positivem Sperma sowohl zu einer Virämie der Sau als auch zu einer PCV2-Infektion der

Ferkel führen kann. Etwa 50 % der lebendgeborenen und PCV2-DNA positiven Ferkel weisen keine PCV2-Antikörper im präkolostral entnommenen Serum auf (MADSON et al., 2009). Die Autoren vermuten, dass sich diese Ferkel bereits vor dem Erlangen der Immunkompetenz (70. Trächtigkeitstag) oder erst kurz vor der Geburt infiziert haben (MADSON et al., 2009).

2.2. Infektion

Nach Aufnahme des Virus über den Respirationstrakt des Schweins, kommt es zu einer Infektion der bronchialen und bronchiolären Epithelzellen (MAGAR et al., 2000a). Begründen lässt sich diese Vermutung durch das Auftreten erster charakteristischer mikroskopischer Läsionen in den Lungen intranasal infizierter Absetzferkel (MAGAR et al., 2000a). Eine weitere Möglichkeit für den Eintritt des Virus in den Körper sehen MAGAR et al. (2000a) in der Infektion des Nasopharynx und der Tonsillen, mit Befall der mononukleären Zellen und der Verteilung über die Lymphe und das Blut.

Sowohl im Serum und Vollblut als auch in verschiedenen Se- und Exkreten ist PCV2-DNA auch mehrere Wochen nach einer natürlichen Infektion nachweisbar (SHIBATA et al., 2003; MCINTOSH et al., 2006; MONROY et al., 2015). DVORAK et al. (2013) beschreiben die PCV2-Prävalenzen im Blut von Sauen aus verschiedenen Herden zum Zeitpunkt der Abferkelung mit Werten zwischen 30 % und 100 %. Die Viruslast im Blut einzelner Sauen ist dabei unterschiedlich hoch und scheint unabhängig vom Impfstatus oder der Parität der Sau zu sein (DVORAK et al., 2013). SHIBATA et al. (2003) vergleichen die PCV2-Prävalenz einer natürlich infizierten Herde innerhalb verschiedener Altersgruppen. Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen, dass der Anteil PCV2-positiver Untersuchungsmaterialien (Vollblut, Kot und Nasentupfer) in der Gruppe der drei bis vier Monate alten Tiere am höchsten ist (SHIBATA et al., 2003). RODRIGUEZ-ARRIOJA et al. (2002) untersuchen die Seren von Sauen zum Zeitpunkt des Absetzens und von deren Nachkommen bis zur 28. Lebenswoche. Von 29 Sauen ist eine Sau zum Zeitpunkt des Absetzens virämisch (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Die PCV2-DNA Prävalenz im Blut der Nachkommen steigt im Laufe der Zeit von 15,3 % (7. LW) auf 62,7 % (12. LW) (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Mit Erreichen der 28. LW sind 13,6 % der Nachkommen PCV2-DNA positiv

(RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Zu einer ähnlichen Erkenntnis gelangen MCINTOSH et al. (2006), die in ihrer Studie erst ab dem 72. Lebenstag PCV2-DNA im Serum natürlich infizierter Schweine nachweisen können und es bei 45 % der Tiere zu einem wiederholten PCV2-DNA Nachweis ab dem 72. Lebenstag kommt (MCINTOSH et al., 2006). PCV2-DNA negative Proben vor dem 72. Lebenstag erklären sich MCINTOSH et al. (2006) entweder durch den Schutz maternaler PCV2-spezifischer Antikörper oder durch andere immunozelluläre Mechanismen. Eine mögliche, wenn auch unwahrscheinliche Erklärung ist eine fehlende PCV2-Infektion bis zu diesem Zeitpunkt (MCINTOSH et al., 2006). Des Weiteren beobachteten MCINTOSH et al. (2006), dass eine PCV2-Virämie in Gegenwart PCV2-spezifischer Antikörper möglich zu sein scheint. Für RODRIGUEZ-ARRIOJA et al. (2002) führen lang anhaltende PCV2-Virämien zu einer Persistenz des Virus in der Herde. Durch eine persistierende Infektion und die damit verbundene, permanente PCV2-Replikation werden das Immunsystem und somit die Antikörperproduktion stimuliert, was auch ohne das Auftreten klinischer Anzeichen möglich zu sein scheint (CARASOVA et al., 2007).

Die Antikörpertiter von Schweinen aus PCV2-infizierten Herden verlaufen häufig nach einem für Virusinfektionen typischen Muster (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002; LAROCHELLE et al., 2003; GRAU-ROMA et al., 2009). LAROCHELLE et al. (2003) analysieren den Verlauf der PCV2-Antikörperprofile in sieben PCV2-infizierten Herden. In sechs dieser sieben untersuchten Herden präsentieren sich vergleichbare PCV2-Antikörperprofile (LAROCHELLE et al., 2003): Die Anzahl seropositiver Ferkel nimmt von der dritten bis zur elften Lebenswoche ab, steigt in der 15. Lebenswoche an und in der 19. und 23. Lebenswoche verfügen alle untersuchten Tiere aus den sechs Herden über PCV2-Antikörper (LAROCHELLE et al., 2003). Als Grund für den Rückgang der Anzahl seropositiver Tiere bis zur elften Lebenswoche sehen LAROCHELLE et al. (2003) den maternalen Ursprung der Antikörper. Untersuchungen aus Dänemark und Spanien führen zu ähnlichen Ergebnissen (GRAU-ROMA et al., 2009). Die PCV2-Antikörper-Titer der Ferkel sinken im Laufe der Sägezeit ab und erreichen in der sechsten bis siebten Lebenswoche ihr Minimum (GRAU-ROMA et al., 2009). Zwischen der elften und 15. Lebenswoche können LAROCHELLE et al.

(2003) erstmals PCV2-DNA im Serum der Schweine nachweisen. Aus diesen Ergebnissen leiten die Autoren ab, dass die Tiere zu diesem Zeitpunkt dem Virus ausgesetzt und es daraufhin zur Serokonversion kommt (LAROCHELLE et al., 2003). OKUDA et al. (2003) untersuchen die Entwicklung der Serokonversion nach Infektion unter kontrollierten Bedingungen von schnittentbundenen Ferkeln, die ohne Kolostrumaufnahme heranwachsen. Bereits 14 Tage p. i. zeigen die ersten Ferkel eine aktive Serokonversion und ab dem 28. Tag p. i. sind alle Ferkel PCV2-seropositiv (OKUDA et al., 2003).

2.3. Pathogenese

Die Pathogenese von PCV2 ist bisher noch nicht in vollem Umfang erforscht (OPRIESSNIG et al., 2007; MENG, 2013). Als empfindliche Zielzellen von PCV2 werden die Lymphoblasten beschrieben (SANCHEZ et al., 2004; LEFEBVRE et al., 2008; NAUWYNCK et al., 2012). YU et al. (2007) ordnen vor allem den B- und T-Lymphozyten eine unterstützende Rolle hinsichtlich der PCV2-Replikation zu. In den mononukleären Zellen des peripheren Bluts können YU et al. (2007) nur am 13. Tag, nach intranasaler Infektion, eine PCV2-Replikation nachweisen. Möglicherweise ist die Replikation im Blut transient und dient vor allem der Virusverbreitung im Wirt (YU et al., 2007). Nach Infektion der dendritischen Zellen führt eine PCV2-Infektion weder zum Zelltod noch zu einer Virusübertragung auf die T-Lymphozyten (VINCENT et al., 2003). PCV2 scheint als infektiöses Virus in den dendritischen Zellen zu persistieren und nutzt diese als Vehikel innerhalb des Wirts (VINCENT et al., 2003). In PCV2-infizierten Lymphknoten sinkt die Anzahl der dendritischen Zellen (SARLI et al., 2001). Die CD4-T- und B-Lymphozyten in den infizierten Lymphknoten sind reduziert oder zum Teil verschwunden (SARLI et al., 2001). Der Mechanismus, der nach einer PCV2-Infektion zu einem massiven Verlust von Lymphozyten führt ist derzeit noch nicht vollständig aufgeklärt (DARWICH und MATEU, 2012). Ob der Abbau der Lymphozyten durch eine reduzierte Produktion des Knochenmarks, durch eine virusinduzierte Apoptose oder eventuell durch eine verminderte Zellproliferation entsteht, wird in der Literatur kontrovers diskutiert (MANDRIOLI et al., 2004; LIU et al., 2006; OPRIESSNIG et al., 2007; MENG, 2013). Der Verlust der Lymphozyten führt zu einer vermehrten Freisetzung von Cytokinen und es

kommt infolgedessen zur Proliferation und Infiltration von Makrophagen in das betroffene Gewebe (REINER und WILLEMS, 2008). Zusätzlich führt die PCV2-Infektion zu einer Veränderung der Zellpopulation des Immunsystems (SEGALÉS et al., 2001; LIU et al., 2006). Daraus resultiert eine Immunsuppression des infizierten Schweines (SARLI et al., 2001; SEGALÉS et al., 2004), die möglicherweise als Wegbereiter für Sekundärinfektionen dient (REINER und WILLEMS, 2008).

2.4. PCV2-assoziierte Erkrankungen

In experimentellen Infektionsversuchen mit gnotobiotischen Schweinen führt die alleinige Infektion mit PCV2 weder zur klinischen Erkrankung noch zu makroskopischen Läsionen in den Organen (KRAKOWKA et al., 2000). Die Entwicklung und Ausprägung einer PCV2-assoziierten Erkrankung steht in engem Zusammenhang mit dem Immunstatus des Tieres und möglichen Koinfektionen (KRAKOWKA et al., 2000; MENG, 2013). SEGALÉS (2012) fasst die Erkrankungen und Erkrankungssyndrome als **porcine circovirus diseases (PCVD)** zusammen und schlägt folgende Terminologie vor:

SEGALÉS (2012) betrachtet die **PCV2 subclinical infection (PCV2-SI)** als die häufigste Form der PCV2-Infektion. Subklinisch infizierte Schweine zeigen keine klinischen Anzeichen einer Erkrankung und histopathologische Gewebeläsionen sind nicht, oder nur minimal vorhanden (SEGALÉS, 2012). Die Virusmenge im lymphatischen Gewebe ist dabei gering (SEGALÉS, 2012). Die maternalen Antikörper gegen PCV2 schützen die Ferkel zwar vor einer PCV2-Erkrankung (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002), nicht aber vor einer subklinischen PCV2-Infektion (OSTANELLO et al., 2005). Um eine Verbreitung und Persistenz von PCV2 im Gewebe zu verhindern, ist ein hoher PCV2-Antikörpertiter zum Zeitpunkt der Infektion von Vorteil (OSTANELLO et al., 2005).

Die **PCV2 systemic disease (PCV2-SD)** wird auch als postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) bezeichnet (SEGALÉS, 2012). Prädisponiert sind Absetzferkel und Läufer Schweine zwischen der fünften und 15. Lebenswoche (HARDING und CLARK, 1997; ALLAN und ELLIS, 2000; HARDING, 2004). Die Mortalitätsrate steigt in PMWS-betroffenen Herden an (RODRIGUEZ-ARRIOJA et

al., 2002) und kann bei akuten Ausbrüchen bis zu 50 % betragen (CHEUNG et al., 2007). Abhängig von der Viruslast im Serum können sich infizierte Tiere von einer klinischen Erkrankung erholen oder gesund bleiben (DUPONT et al., 2009). Das klinische Erscheinungsbild umfasst Kümmern, Atemnot, Durchfall, vergrößerte Lymphknoten, struppiges Haarkleid, Blässe oder Ikterus (HARDING et al., 1998; ALLAN und ELLIS, 2000). Die makroskopischen Veränderungen in den Organen (HARDING und CLARK, 1997) sind unspezifisch und unregelmäßig (SEGALÉS und DOMINGO, 2002). SEGALÉS und DOMINGO (2002) beschreiben eine Atrophie und Verfärbung der Leber sowie multifokale weiße Herde in der Nierenrinde. ROSELL et al. (1999) beobachten nicht kollabierte Lungen sowie vergrößerte Inguinal- und Mesenteriallymphknoten. Mikroskopische Veränderungen werden sowohl in den lymphatischen Organen wie Lymphknoten, Tonsillen, Peyer-Platten und Milz, als auch in der Leber, den Nieren und der Lunge festgestellt (ROSELL et al., 1999). Schwere Verläufe des PMWS führen zu einer Veränderung der Immunzellpopulationen des Schweins und verhindern dadurch den Aufbau einer effektiven Immunantwort (SEGALÉS et al., 2004).

Krankheitsbilder wie der porcine respiratory disease complex (PRDC) und die proliferative necrotising pneumonia (PNP) gehören zu PCV2-assoziierten Atemwegserkrankungen, die SEGALÉS (2012) unter dem Begriff **PCV2 lung disease (PCV2-LD)** zusammenfasst. Hinter dem PRDC verbirgt sich ein multifaktorielles Krankheitsgeschehen an dessen Entstehung neben PCV2 auch weitere bakterielle und virale Erreger beteiligt sind (THACKER, 2001; KIM et al., 2003). Erkrankte Schweine zeigen Husten, Dyspnoe, Anorexie und Lethargie (HARMS et al., 2002). Abhängig von den Koinfektionen zeigen sich verschiedene histopathologische Befunde wie eitrige Bronchopneumonien, hochgradige interstitielle Pneumonien (HARMS et al., 2002) sowie peribronchiale und periobronchioläre Fibrosen (KIM et al., 2003). Die PNP wird 1990 erstmals in Kanada beschrieben (MORIN et al., 1990) und führt zu hochgradigen interstitiellen Pneumonien, gekennzeichnet durch Proliferation der Typ-II-Pneumozyten und Ansammlung nekrotischer Entzündungszellen innerhalb der Alveolen (MORIN et al., 1990; DROLET et al., 2003; GRAU-ROMA und SEGALÉS, 2007). Nordamerikanische Studien sehen im PRRS-Virus den

verantwortlichen Erreger für die Entstehung der PNP (DROLET et al., 2003). Demgegenüber stehen die Ergebnisse einer spanischen Studie, nach der PCV2 das ausschlaggebende Agens darstellt (GRAU-ROMA und SEGALÉS, 2007).

Unter der Bezeichnung **PCV2 reproductive disease (PCV2-RD)** fasst SEGALÉS (2012) Reproduktionsstörungen in Verbindung mit PCV2 zusammen. Eine PCV2-Infektion der Muttersau kann zu Aborten und Totgeburten (PARK et al., 2005), mumifizierten Feten (MADSON et al., 2009) oder einer erhöhten Saugferkelmortalität (BRUNBORG et al., 2007) führen. Bereits intrauterin kann die Muttersau PCV2 auf ihre Ferkel übertragen (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013). Der höchste PCV2-DNA Nachweis gelingt im Myokard sowie in der Leber und der Milz totgeborener Ferkel (BRUNBORG et al., 2007).

Eine PCV2-Infektion kann sich auch in Form einer Darmerkrankung manifestieren (KIM et al., 2004). Da die klinischen Anzeichen der **PCV2 enteric disease (PCV2-ED)** auch bei einer systemischen PCV2-Erkrankung auftreten wird ein möglicher „diagnostic overlap“ diskutiert (OPRIESSNIG et al., 2007; SEGALÉS, 2012; BARO et al., 2015). Betroffene Schweine zeigen Durchfall und in der histopathologischen Untersuchung beschränken sich morphologische Veränderungen auf den Darmtrakt (KIM et al., 2004). Die Peyer-Platten des Darms weisen granulomatöse Entzündungen und eine Lymphozytendepletion auf (KIM et al., 2004). In den histologischen Läsionen der Peyer-Platten kann mittels In-Situ-Hybridisierung PCV2-DNA nachgewiesen werden (KIM et al., 2004).

Die Ätiologie des **porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS)** ist bisweilen noch nicht vollständig geklärt (DURAN und RENDER, 1997; DROLET et al., 1999; THOMSON et al., 2002). Klinische Anzeichen sind neben einer schlechten körperlichen Verfassung häufig Blässe, Anorexie, Dyspnoe und Lethargie (WELLENBERG et al., 2004). Akut erkrankte Tiere können wässrigen Durchfall oder schwarzen Kot absetzen (SEGALÉS et al., 1998). Gelegentlich sind Ataxien, Paresen (WELLENBERG et al., 2004) oder Tremor (SEGALÉS et al., 1998) zu beobachten. Die charakteristischen Hautläsionen präsentieren sich hauptsächlich an den Hintergliedmaßen (HELIE et al., 1995) sowie am Abdomen, den Ohren, im Perinealbereich und an den lateralen Bereichen der Vordergliedmaßen (WELLENBERG et al., 2004). Makroskopisch zeigen sich

weiche, vergrößerte und blasse Nieren mit petechialen Blutungen (MAJZOUB et al., 2005) oder multifokalen weißen Punkten (WELLENBERG et al., 2004). Die vergrößerten hämorrhagischen (WELLENBERG et al., 2004) und ödematösen (SEGALÉS et al., 1998) Lymphknoten sprechen für eine generalisierte Lymphadenopathie (WELLENBERG et al., 2004). Mikroskopische Veränderungen der Nieren sind gekennzeichnet durch exsudative Glomerulonephritiden (MAJZOUB et al., 2005) mit milden bis schweren Verläufen (WELLENBERG et al., 2004). Die systemische Vaskulitis in Verbindung mit einer exsudativen Glomerulonephritis lässt vermuten, dass sich die Erkrankung in Form einer Hypersensibilitätsreaktion vom Typ III manifestiert (SEGALÉS et al., 1998; ROSELL et al., 2000; WELLENBERG et al., 2004). Während nach WELLENBERG et al. (2004) eine PDNS-Erkrankung primär mit einer PCV2-Infektion einhergeht, werden von anderen Autoren das PRRS-Virus (SEGALÉS et al., 1998; THIBAUT et al., 1998) oder eine Infektion mit *Pasteurella multocida* als auslösenden Erreger in Betracht gezogen.

2.5. Impfung

Die PCV2-Impfung ist eine effektive Maßnahme zur Verhinderung klinisch relevanter PCV2-Erkrankungen (KIXMÖLLER et al., 2008; OPRIESSNIG et al., 2008b; ANDRAUD et al., 2009; MARTELLI et al., 2011; DVORAK et al., 2016). Im Vergleich zu ungeimpften Kontrolltieren zeigen geimpfte Schweine eine verkürzte Dauer der Virämie in Verbindung mit einer geringeren Viruslast (KIXMÖLLER et al., 2008; MARTELLI et al., 2011). Ferner trägt die PCV2-Impfung zu einer Reduktion der Mortalitätsrate sowie zu einer Steigerung der Tageszunahmen bei (KIXMÖLLER et al., 2008). FORT et al. (2008) beobachteten bei geimpften Schweinen eine verringerte Virusausscheidung über nasale Sekrete und Kot.

Inwiefern die aktive Immunisierung der Ferkel zum Erfolg führt zeigen KIXMÖLLER et al. (2008) in einer Doppelblindstudie. Im Vergleich zu der Placebogruppe zeigen die geimpften Ferkel vier Wochen nach der Impfung höhere Antikörpertiter und eine geringere Viruslast im (KIXMÖLLER et al., 2008). In einer weiteren Studie untersuchen HAAKE et al. (2014) inwiefern hohe maternale Antikörpertiter die Wirksamkeit der Ferkelimpfung beeinflussen. Die

Ferkel erhalten entweder im Alter von einer Woche oder im Alter von drei Wochen eine PCV2-Impfung, zusätzlich dient eine ungeimpfte Ferkelgruppe als Kontrollgruppe (HAAKE et al., 2014). Dabei zeigt sich, dass die Ferkelimpfung im Alter von drei Wochen zu höheren Tageszunahmen und im Fall einer PCV2-Infektion zu signifikant niedrigeren Virämien führt (HAAKE et al., 2014). Da die maternalen Antikörper zum Impfzeitpunkt vergleichbar hoch sind vermuten HAAKE et al. (2014) andere Faktoren, die eine frühere Ferkelimpfung negativ beeinflussen.

Die PCV2-Impfung der Muttersauen führt zu einem Anstieg der PCV2-Antikörper im Kolostrum (O'NEILL et al., 2012) über dessen Aufnahme die Ferkel passiv immunisiert werden (O'NEILL et al., 2012; OH et al., 2012). Diese maternalen Antikörper scheinen die Ferkel nicht vor einer subklinischen Infektion, wohl aber vor einer klinischen Erkrankung durch PCV2 zu schützen (OSTANELLO et al., 2005). MCKEOWN et al. (2005) vermuten einen Zusammenhang zwischen hohen maternalen Antikörpertitern und dem Schutz vor einer PCV2-Erkrankung. Je höher der Antikörpertiter, desto effektiver ist der Schutz (MCKEOWN et al., 2005). Durch die Impfung der Muttersauen sinkt die Prävalenz PCV2-positiver Ferkel (O'NEILL et al., 2012) und die Ausscheidung von PCV2 über das Kolostrum wird ebenfalls reduziert (GERBER et al., 2011). Ferkel von geimpften Sauen verzeichnen höhere Tageszunahmen und eine entsprechend kürzere Mastperiode, als Ferkel von ungeimpften Sauen (KURMANN et al., 2011).

Des Weiteren scheint die flächendeckende Impfung gegen PCV2 auch einen Einfluss auf die PCV2-Prävalenz in der Hausschweinpopulation zu haben (DVORAK et al., 2016). Die umfassende und kontinuierliche Impfung gegen PCV2 könnte nach DVORAK et al. (2016) möglicherweise zu einer Eliminierung von PCV2 in den landesweiten Herden führen. Demgegenüber stehen die Ergebnisse einer Studie von FENG et al. (2014), in der es nicht gelungen ist, PCV2-Infektionen mithilfe von Massenimpfungen zu eliminieren. Während der Massenimpfung sinkt die Anzahl virämischer Schweine und die PCV2-Antikörperwerte der Sauen nehmen ab (FENG et al., 2014). Vier Monate nach Abbruch des Impfprogramms können FENG et al. (2014) erneut virämische Tiere detektieren. Aus ihren Ergebnissen leiten die Autoren ab, dass eine Eradikation

basierend auf einer Impfung von Tieren nicht erreicht werden kann (FENG et al., 2014).

3. Diagnostik

Die verschiedenen Krankheitsbilder, die mit PCV2 im Zusammenhang stehen, weisen jeweils unspezifische klinische Symptome auf (SEGALÉS, 2012). Die Kombination aus klinischen und pathologischen Untersuchungen sowie der Labordiagnostik ist daher unerlässlich für die verlässliche Diagnose (SEGALÉS, 2012). Im Jahr 2000 definiert SORDEN (2000), welche Voraussetzungen für die Diagnose PMWS erfüllt sein müssen: Klinische Symptome in Verbindung mit charakteristischen, histologischen Läsionen in beliebigen Organen, typischerweise der Lunge oder im lymphatischen Gewebe, inklusive einem PCV2-DNA Nachweis in diesen Läsionen (SORDEN, 2000). Die Diagnose einer systemischen PCV2-Erkrankung auf Herdenebene basiert auf zwei wichtigen Punkten (SEGALÉS, 2012): Ein vergleichsweise signifikanter Anstieg der Mortalität von Absetzferkeln, die möglicherweise klinische Symptome einer PCV2-SD zeigen, in Verbindung mit einer individuellen PCV2-SD-Diagnose in einem von drei bis fünf seziierten Schweinen (SEGALÉS, 2012). Andere potentielle Ursachen, die zu einer erhöhten Mortalität führen können, müssen vorab ausgeschlossen werden (SEGALÉS, 2012). Je nach Krankheitsbild einer PCVD können unterschiedliche Organe betroffen sein, weshalb es ratsam ist, verschiedene Organe in die Untersuchung miteinzubeziehen (WELTI et al., 2012; OPRIESSNIG und LANGOHR, 2013). Besteht beispielsweise der Verdacht PCV2-induzierter Aborte sind die Herzen der Feten zu untersuchen, da sich vor allem im kardiovaskulären System der Feten die charakteristischen Läsionen (OPRIESSNIG und LANGOHR, 2013) in Verbindung mit hohen Antigenmengen präsentieren (SANCHEZ et al., 2001).

3.1. PCR

Mithilfe der PCR können PCV2-spezifische Genomfragmente in verschiedenen Untersuchungsmaterialien, wie beispielsweise Serum (SEGALÉS et al., 2005b), Gewebe (BRUNBORG et al., 2004), Speichel (PRICKETT et al., 2011), Nasentupfern und Kot (SHIBATA et al., 2003) nachgewiesen werden (OPRIESSNIG und

LANGOHR, 2013). Die im jeweiligen Untersuchungsmaterial vorhandene DNA wird dabei *in vitro* amplifiziert (MULLIS und FALOONA, 1987). Die real-time PCR ermöglicht während der laufenden Untersuchung mittels Fluoreszenzmessung den Nachweis und die Quantifizierung der entstandenen Amplifikate (MACKAY et al., 2002). Die Ergebnisse werden in ct-Werten (cycle threshold) angegeben. Der ct-Wert beschreibt die Anzahl von Zyklen, die nötig sind um einen festgelegten Schwellenwert zu überschreiten (HEID et al., 1996).

Hinsichtlich der Ausprägung einer PCV2-Erkrankung wird ein signifikanter Zusammenhang mit der im Serum oder in infizierten Geweben ermittelten Viruslast beschrieben (BRUNBORG et al., 2004; OLVERA et al., 2004; SEGALÉS et al., 2005b; GRAU-ROMA et al., 2009). Während BRUNBORG et al. (2004) die als klinisch relevante Virusmenge im Blut von Schweinen mit 10^7 Genomkopien/ml Serum ansehen, kategorisieren OLVERA et al. (2004) die Schweine anhand der Schwere der vorhandenen mikroskopischen Läsionen im lymphatischen Gewebe in drei Gruppen. Die mittels q-real-time-PCR erhaltenen PCV2-DNA-Serumwerte korrelieren mit dem Grad der mikroskopischen Läsionen (OLVERA et al., 2004). OLVERA et al. (2004) sehen in der q-real-time-PCR eine diagnostische Möglichkeit, sofern eine ausreichend große Anzahl Tiere untersucht wird. Sie schlagen für die PMWS-Diagnose einen Schwellenwert von über 10^7 Genomkopien/ml Serum vor (OLVERA et al., 2004). Um den PMWS-Status einer Herde zu analysieren scheint die Blutanalyse mittels q-real-time-PCR ein geeignetes diagnostisches Mittel (GRAU-ROMA et al., 2009). Für die individuelle Diagnose innerhalb PMWS-betroffener Herden kann die Kombination aus Histopathologie und PCV2-Gewebenachweis nicht durch die q-real-time-PCR ersetzt werden (GRAU-ROMA et al., 2009).

3.2. Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay (ELISA)

Der Nachweis von PCV2-Antikörpern lässt keinen Rückschluss auf eine akute oder potentielle PCVD zu (ALLAN und ELLIS, 2000). Im Jahr 2000 entwickeln WALKER et al. (2000) den ersten kommerziell erhältlichen kompetitiven ELISA zur Detektion von PCV2-Antikörpern. Die zu detektierenden PCV2-Antikörper aus der Serumprobe konkurrieren dabei mit PCV2-spezifischen-monoklonalen Antikörpern um die Bindung mit einem PCV2-Antigen aus einer infizierten

Zellkultur (WALKER et al., 2000). Sofern die PCV2-spezifischen-monoklonalen Antikörper binden können wird hinzugefügtes Substrat umgesetzt und es entsteht eine messbare Farbreaktion, umgekehrt proportional zur Menge der gesuchten PCV2-Antikörper (WALKER et al., 2000). PCV2-Antikörper können hiermit qualitativ oder quantitativ bestimmt werden. Damit kann neben der Seroprävalenz der gesamten Herde auch die Höhe der Antikörpertiter einzelner Tiere bestimmt werden. Ein derzeit kommerziell verfügbarer Test ist der SERELISA® PCV2 Ab Mono Blocking (DELPHARM BIOTECH, Lyon, France). Für die Frage nach dem Infektionszeitpunkt mit PCV2 empfiehlt sich ein Test, der zwischen IgG- und IgM-Antikörpern differenzieren kann (Ingezim PCV IgG® and Ingezim PCV IgM®, Firma Ingenasa, Madrid, Spanien). Nach Angaben des Herstellers kann durch die Interpretation des Mengenverhältnisses von IgG zu IgM der Zeitpunkt der Infektion näher beschrieben werden. Entsprechend kann zwischen einer aktiven Infektion ($\text{IgM} > \text{IgG}$) und einer ein bis zwei Monate alten Infektion ($\text{IgG} > \text{IgM}$) differenziert werden. Der alleinige IgG-Nachweis spricht nach Angaben des Herstellers für eine länger zurückliegende Infektion (Gebrauchsanleitung des Ingezim PCV IgG® and Ingezim PCV IgM®, Firma Ingenasa).

3.3. In-Situ-Hybridisierung

Die In-Situ-Hybridisierung dient dem Nachweis viraler DNA im Gewebe (MCNEILLY et al., 1999; NAWAGITGUL et al., 2000a). Auf das in Formalin fixierte Gewebe wird eine markierte DNA-Sonde aufgebracht (ROSELL et al., 1999). Die markierte DNA-Sonde ist dabei komplementär zur gesuchten DNA-Sequenz (ROSELL et al., 1999). Sofern die gesuchte Sequenz im Gewebeschnitt vorhanden ist, bindet die markierte Sonde und führt zu einer Farbreaktion, die mikroskopisch ausgewertet werden kann (ROSELL et al., 1999). Als Probenmaterial eignen sich neben Organen wie Leber, Milz, Lunge, Niere und Darm auch Peyer-Platten, Lymphknoten und Tonsillen (CHOI und CHAE, 1999; ROSELL et al., 1999; CALSAMIGLIA et al., 2002). MCNEILLY et al. (1999) gelingt der PCV-Nachweis mittels In-situ-Hybridisierung in archivierten Gewebeschnitten, die sechs Monate in Formalin fixiert waren. Eine Besonderheit dieser diagnostischen Methode ist, dass durch den Nachweis viraler DNA im

Gewebe eine mögliche Verbindung zu betroffenen Zellen oder histopathologischen Veränderungen geschaffen wird (CHOI und CHAE, 1999).

3.4. Immunhistochemie

PCV2-Antigen kann durch eine immunhistochemische Untersuchung von in Formalin fixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe nachgewiesen werden (MCNEILLY et al., 1999; SORDEN et al., 1999). Mit Hilfe eines markierten Antikörpers wird das gesuchte PCV2-Antigen detektiert (MCNEILLY et al., 1999). Da die Diagnose PMWS nur in Verbindung mit einem PCV2-Antigen Nachweis in Läsionen als gesichert gilt, sind Untersuchungen mittels Immunhistochemie und In-Situ-Hybridisierung wichtige diagnostische Verfahren (SORDEN, 2000).

III. MATERIAL UND METHODEN

1. Anzeige des Tierversuchsvorhabens

Das Versuchsvorhaben wurde beim Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz Nordrhein-Westfalen gemäß §8a des Tierschutzgesetzes angezeigt (Aktenzeichen 84-02.05.40.16.023) und am 28. April 2016 genehmigt.

2. Arbeitshypothesen

- 1) Basierend auf der Annahme, dass eine PCV2-Virämie vor allem bei Schweinen mit einem Alter von 17 - 24 Wochen nachgewiesen werden kann, haben Jungsauen einen besonderen Stellenwert für den Erhalt einer endemischen PCV2-Infektion in einer Sauenherde.
- 2) Bedingt durch den sich ständig ändernden humoralen Immunstatus produktiver Muttersauen, steht der Nachweis einer PCV2-Virämie und PCV2-Ausscheidung in Zusammenhang mit dem jeweiligen Produktionsstatus der Muttersauen.

3. Versuchsaufbau

3.1. Studienbetrieb

Um die Ziele der vorliegenden Arbeit zu erreichen, wurde ein Bestand gesucht, bei dem noch keine Impfung gegen PCV2 durchgeführt wurde. Der Versuchsbetrieb ist ein Jungsauenvermehrter in Nordrhein-Westfalen mit einer Stammherde von 400 Muttertieren der Topigs Norsvin Genetik und einer Eigenremontierungsrate von 60 %. Die Sauen ferkeln in einem unregelmäßigen dreiwöchigen Rhythmus in acht Gruppen ab. Pro Jahr werden circa 4800 Jungsauen vermarktet. Die männlichen Nachkommen werden vorwiegend als Absetzferkel an einen Mäster verkauft, ein kleiner Teil der männlichen Tiere wird in einem separaten Stall des Betriebes gemästet. Zum Zeitpunkt der Probenentnahme gab es im Betrieb keinerlei klinische Anzeichen einer PCVD.

Die Sauen werden gegen PRRSV (Ingelvac PRRS® MLV, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, Deutschland), Parvovirose und Rotlauf

(Parvovurac®, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland), und mit einem stallspezifischen Impfstoff gegen *Escherichia coli* geimpft. Jungsauen, die zur Eigenremontierung eingesetzt werden, erhalten ab dem 180. LT zweimal innerhalb von vier Wochen eine Impfung gegen Parvovirose und Rotlauf (Parvovurac®, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland).

Alle Ferkel erhalten in der dritten LW einen stallspezifischen Impfstoff gegen *Streptococcus suis* und in der vierten LW eine Impfung gegen *Mycoplasma hyopneumoniae* (M+Pac®, Intervet Deutschland GmbH).

Weibliche Nachkommen, die als Zuchtläufer selektiert werden, erhalten in der Jungsauenaufzucht eine Impfung gegen *Lawsonia intracellularis* (Enterisol® Ileitis, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, Deutschland) und *Haemophilus parasuis* (Porcilis® Glässer, Intervet Deutschland GmbH). Die Immunprophylaxe gegen PRRSV (Ingelvac PRRS® MLV, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Ingelheim, Deutschland) erfolgt bei den Zuchtläuferten in der dritten LW und wird am 120. LT wiederholt.

In der Quarantäne stehen sechs bis zehn Jungsauen zusammen in einer Bucht auf Betonspaltenboden. Als Beschäftigungsmaterial sind Spielketten angebracht. Die tragenden Sauen sind während der Trächtigkeit in Gruppenhaltung (circa zehn Tiere/Bucht) auf Betonspaltenboden untergebracht. Während der Säugephase stehen die Sauen in Abferkelbuchten und kommen nach dem Absetzen der Ferkel in das Deckzentrum. Nach spätestens zehn Tagen verlassen die Sauen das Deckzentrum und kommen, ihrer Wochengruppe entsprechend, zurück in die Gruppenhaltung. Das Futter wird dem jeweiligen Produktionsstatus der Sau angepasst (Tragend-/Laktationsfutter). Im gesamten Betrieb werden die Tiere über Flüssigfütterung gefüttert. Die Wasserversorgung der Schweine erfolgt in allen Altersgruppen ad libitum.

Der Stall wurde über eine Hygieneschleuse mit anschließender Dusche in Schutzkleidung betreten. Vor Betreten des Stalls war der Kontakt zu anderen Schweinen für 48 Stunden untersagt. Im Umgang mit den Tieren wurden Einmalhandschuhe sowie ein Mundschutz getragen.

3.2. Studienpopulation

Die Stammherde besteht aus acht Wochengruppen (W1-W8) mit insgesamt 400 Sauen, die im unregelmäßigen, dreiwöchigen Rhythmus abferkeln. Die neunte Gruppe bilden die zuchtreifen und noch unbelegten Jungsauen in der Quarantäne (QS). Der Status der einzelnen Gruppen zum Zeitpunkt der Beprobung ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Produktionsstatus der Sauengruppen zum Zeitpunkt der Beprobung.

Gruppe	Status	Stall
W 1	4. Woche p. p.	Abferkelung
W 2	2. Woche p. p.	Abferkelung
W 3	15. Woche tragend	Wartestall
W 4	12. Woche tragend	Wartestall
W 5	10. Woche tragend	Wartestall
W 6	7. Woche tragend	Wartestall
W 7	5. Woche tragend	Wartestall
W 8	2. Woche tragend	Wartestall
QS	Eingliederung	Quarantäne

Um als Orientierungsstudie eine Aussage über die PCV2-Prävalenz virämischer und seropositiver Sauen treffen zu können, wurde ein statistisches Gutachten erstellt und die Stichprobenanzahl berechnet. Basierend auf dem statistischen Gutachten wurde aus jeder der acht Wochengruppen eine Stichprobenanzahl von 38 Tieren pro Gruppe gewählt. Außerdem wurden 38 Jungsauen in der Quarantäne beprobt, sodass insgesamt 342 Schweine in die Studie eingeschlossen waren. Von jeder Sau der Stammherde (Wochengruppen 1-8) wurde die Parität mithilfe eines Sauenplaners (db.Software, BHZP GmbH, Ellringen, Deutschland) erfasst. Entsprechend ihrer Parität wurden Gruppen definiert. Jungsauen, die sich in der Eingliederung befanden, wurden als Jungsauen in Quarantäne (QS) bezeichnet. Trächtige Jungsauen und Jungsauen mit dem ersten Wurf in der Abferkelung wurden als Jungsauen (Paritätsgruppe 0) eingestuft. Trächtige Sauen, die bereits einmal geferkelt hatten galten als primipare Sauen (Paritätsgruppe 1) und Sauen mit zwei und mehr Würfen waren Altsauen (Paritätsgruppe 2).

4. Probenentnahme

Die Probenentnahme erfolgte vom 20. - 23. Juni 2016. Jedem Studientier wurde einmalig jeweils eine Serum-, Speichel- und Kotprobe entnommen.

4.1. Blutproben

Muttersauen, die sich im Kastenstand befanden, wurden von einer Hilfsperson abgelenkt und ohne Fixierung an der rechten *Vena jugularis externa* punktiert. Unruhige Muttersauen sowie Sauen und Jungsauen, die sich in Gruppenhaltung befanden, wurden mittels Oberkieferschlinge fixiert. Zur Blutentnahme wurden Serummonovetten (Primavette® V Serum 10 ml, Kabe Labortechnik, Nümbrecht-Elsenroth, Deutschland) mit sterilen Einmalkanülen (1,2 x 100 mm, SUPRA®, Ehrhardt-Söhne GmbH, Geislingen, Deutschland) verwendet. Bei Jungsauen wurde eine kleinere Einmalkanüle (1,2 x 75 mm SUPRA®, Ehrhardt-Söhne GmbH, Geislingen, Deutschland) gewählt.

Die gewonnenen Blutproben wurden bis zu Weiterbearbeitung bei 7 °C gelagert. Nach Zentrifugation für zehn Minuten bei 1560 g (Rotanta 460R Zentrifuge, Andreas Hettich® GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Deutschland) wurde jede Serumprobe gleichmäßig in drei beschriftete Eppendorf-Gefäße (Eppendorf® Safe-Lock Tubes 1,5 ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) pipettiert. Bis zu weiteren Untersuchungen wurden die Proben bei -18 °C bis -22 °C aufbewahrt.

4.2. Speichelproben

Die Speichelproben wurden mittels einer Watterolle (Salivette®, Firma Sarstedt AG & Co, Nümbrecht, Deutschland) gewonnen. Die Watterolle wurde dem Schwein mithilfe einer langen Klemme zum Kauen angeboten, bis sie ausreichend durchfeuchtet war.

Die Salivetten® wurden am Tag der Probenentnahme für fünf Minuten bei 865 g zentrifugiert (Hettich Zentrifuge EBA20, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, 78532 Tuttlingen, Deutschland). Der dadurch gewonnene Niederschlag wurde aus der Vertiefung der Salivettenröhre in ein bis zwei beschriftete Eppendorf-Gefäße (Eppendorf® Safe-Lock Tubes 1,5 ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) pipettiert und für weitere Untersuchungen bei -18 °C bis -22 °C aufbewahrt.

Im Labor wurden frisch aufgetaute Speichelproben 1:1 mit RNase-free H₂O (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) verdünnt.

4.3. Kotproben

Die Kotproben wurden entweder von frisch abgesetztem Kot oder durch Manipulation am Rektum gewonnen. Zur weiteren Verarbeitung wurden die Kotproben in Gefäßen mit Schraubverschluss bei -18 °C bis -22 °C tiefgefroren.

Von frisch aufgetauten Kotproben wurde eine Spatelspitze Kot mit 1,5 ml phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) in einem Reaktionsgefäß (Eppendorf® Safe Lock Tubes 2,0 ml, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland) vermengt und für 30 Minuten inkubiert. Anschließend wurde die Probe mittels Vortex-Schüttler vermischt und zwei Minuten bei 865 g zentrifugiert (Hettich Zentrifuge EBA20, Andreas Hettich GmbH & Co.KG, 78532 Tuttlingen, Deutschland). Mindestens 500 µl des Überstands wurden in ein neues Reaktionsgefäß pipettiert und bis zur weiteren Untersuchung am nächsten Tag bei 7 °C aufbewahrt.

5. Diagnostik

5.1. Molekularbiologische Diagnostik

Die Untersuchung der Blut-, Speichel- und Kotproben auf PCV2-spezifische Genomfragmente erfolgte mittels PCR im Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München. Zur Aufreinigung und Extraktion der viralen DNA aus Blut-, Speichel- und Kotproben wurde das kommerziell erhältliche NucleoSpin® 8 Virus Core Kit (Machery-Nagel GmbH & Co. KG, Düren, Deutschland) sowie der Roboter Microlab® STARlet (Hamilton Life Science Robotics GmbH, Martinsried, Deutschland) eingesetzt.

Eine TaqMan real-time PCR nach ZHAO et al. (2010) diente dem Nachweis des PCV2 open reading frame 2 (ORF2). Um alle PCV2 Genotypen sicher zu detektieren, wurden Primer und Sonde wie in Tabelle 2 dargestellt modifiziert.

Tabelle 2: Primer und Sonde der modifizierten real-time PCR nach ZHAO et al. (2010).

Name	Sequenz	Konzentration im PCR-Ansatz
Primer PCV2-Zhao-for	5'- cgg ata ttg tak tcc tgg tcg ta -3'	600 nM
Primer PCV2-Zhao-rev mod	5'- cct gty ctw gat tcc act att gat t -3'	400 nM
Primer PCV2-Zhao-revX97	5'- cct gtc ctw gat agg aca atc gat t -3'	200 nM
Sonde PCV2-Zhao mod	5'-FAM- cga ggc cta crt ggt cya cat ttc - BHQ1-3'	240 nM

Mithilfe eines kommerziell erhältlichen PCR-Kits (QuantiTect® Probe RT-PCR Kit, Qiagen, Hilden, Germany) wurde ein Reaktionsgemisch aus 5 µl Eluat, 12,5 µl PCR-Mastermix, 5,5 µl RNase-freiem Wasser und 2 µl Primer-Sonden-Mix (Tabelle 3) angesetzt.

Für die real-time PCR wurde ein Thermocycler (Stratagene® MX3005P, Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) mit folgendem Temperaturprotokoll eingesetzt:

Tabelle 3: Temperaturprotokoll der PCR.

Zyklen	Schritt	Dauer	Temperatur
1x	Polymeraseaktivierung	15 min	94 °C
42x	Denaturierung	15 sec	94 °C
	Annealing/Extension	60 sec	60 °C

Positiv- und Negativkontrollen wurden bei jedem PCR-Lauf mitgeführt. Die Auswertung erfolgte mittels der Stratagene MxPro Software. Proben mit einem Ct Wert < 40 wurden als positiv, Proben mit einem Ct Wert ≥ 40 als negativ bewertet. Um die Ergebnisse quantifizieren zu können wurde eine log₁₀ Verdünnungsreihe (10⁶ - 10² Genomäquivalente) mit einem Plasmid bekannter Konzentration angefertigt, das die zu amplifizierende PCV2-Sequenz enthält. Die Auswertung der Kotproben erfolgte ausschließlich qualitativ.

5.2. Serologische Diagnostik

Zur Ermittlung der PCV2-Antikörpertiter im Serum der Sauen und der Jungsauen in der Quarantäne wurde der SERELISA® PCV2 Ab Mono Blocking (DELPHARM BIOTECH, France) nach Herstellerangaben verwendet. Es handelt sich dabei um einen monophasischen Blocking ELISA. Zur Auswertung der Ergebnisse wurden die OD-Werte (optical-density) der drei Verdünnungsstufen (1:100; 1:1000; 1:10000) sowie Berechnungsformeln des Herstellers und ein lineares Regressionsmodell verwendet. Die daraus hervorgehenden Antikörpertiter wurden in ELISA-Units (EU) angegeben. Eine Probe mit einem EU < 900 wurde als negativ oder fraglich eingestuft. Proben mit einem EU zwischen 900 und 2000 wurden als schwach positiv und Proben > 2000 EU als positiv bewertet.

6. Statistik

Für die statistische Auswertung wurden die Bestandsdaten sowie die Ergebnisse der Labordiagnostik in das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel® (2010, Microsoft Office) überführt. Die statistische Auswertung und die deskriptive Darstellung der Daten erfolgte mit der Statistiksoftware IBM SPSS Statistics 23.0 (IBM® SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Die vorliegende Arbeit wurde als Querschnittsstudie in einer Sauenherde durchgeführt. Das Signifikanzniveau lag bei 5 %. Das Konfidenzintervall betrug 95 %.

Ein Teil der Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchungen wurde in nominale Daten kodiert (abhängige Variablen: PCV2-DNA Nachweis in Serum, Speichel, Kot: ja (1)/nein (0)). Die abhängigen Variablen wurden mittels Kreuztabellen unter Anwendung des Chi²-Tests nach Pearson auf signifikante Zusammenhänge mit den unabhängigen Variablen (Parität, Paritätsgruppe, Produktionsstatus (Wochengruppe) und vereinfachte Wochengruppe (niedertragende Sauen, hochtragende Sauen, Sauen in der Abferkelung)) untersucht. Für signifikante Zusammenhänge wurde zusätzlich die Odds Ratio mittels MedCalc® Onlineversion (https://www.medcalc.org/calc/odds_ratio.php) bestimmt. Für den Fall, dass eine der abhängigen Variablen den Wert Null besaß wurde nach DEEKS und HIGGINS (2010) jede der vier Variablen der Kreuztabelle

um den Wert 0,5 ergänzt.

Metrische Daten (abhängige Variablen: Genomkopien PCV2-DNA/ ml Serum, Genomkopien PCV2-DNA/ ml Speichel) wurden mit Minimal- und Maximalwerten sowie der Standardabweichung angegeben. Die Auswertung der Kotproben erfolgte ausschließlich qualitativ. Die Anwendung des Kolmogorow-Smirnow-Tests besagte eine nicht Normalverteilung der Daten. Daraufhin wurden die Daten mithilfe des Kruskal-Wallis Tests auf signifikante Assoziationen zu den unabhängigen Variablen (Parität, Paritätsgruppe, Produktionsstatus (Wochengruppe) und vereinfachte Wochengruppe (niedertragende Sauen, hochtragende Sauen, Sauen in der Abferkelung)) getestet. Bei errechneten Signifikanzen ($p < 0,05$) erfolgte anschließend der Mann-Whitney-U-Test auf signifikante Unterschiede zweier unabhängiger Stichproben.

IV. ERGEBNISSE

1. Studienpopulation

Die Stammherde besteht aus insgesamt acht Wochengruppen (W1-W8). Nach der Datenauswertung, mithilfe des Sauenplaners, setzt sich die Stammherde wie folgt zusammen:

Tabelle 4: Studienpopulation aufgeteilt nach der Parität je Wochengruppe.

WG	JS		PPS		P2		P3		P4		P5		P6		P7		P8		P9		Ges	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	N	%
W1	14	37	0	0	6	16	5	13	7	18	1	3	4	11	0	0	0	0	1	3	38	12,5
W2	13	34	0	0	9	24	6	16	3	8	6	16	1	3	0	0	0	0	0	0	38	12,5
W3	8	21	6	16	6	16	4	11	5	13	4	11	2	5	1	3	2	5	0	0	38	12,5
W4	11	29	9	24	6	16	7	18	2	5	1	3	1	3	1	3	0	0	0	0	38	12,5
W5	12	32	11	29	4	11	2	5	3	8	4	11	2	5	0	0	0	0	0	0	38	12,5
W6	12	32	9	24	8	21	2	5	1	3	3	8	1	3	2	5	0	0	0	0	38	12,5
W7	14	37	5	13	3	8	4	11	2	5	5	13	3	8	1	3	0	0	1	3	38	12,5
W8	14	37	5	13	3	8	4	11	3	8	7	18	2	5	0	0	0	0	0	0	38	12,5
Ges	98	32	45	15	45	15	34	11	26	9	31	10	16	5	5	2	2	1	2	1	304	100

WG = Wochengruppe, W1 bis W8 = Wochengruppen 1 - 8, JS = Jungsau, PPS = Primipare Sauen, P2 (P9) = Sauen mit 2 (bis 9) Geburten

Die Tabelle 5 zeigt die Anzahl (n) und den Anteil (%) der Sauen unter Berücksichtigung ihrer jeweiligen Paritätsgruppe. Die Jungsauen (n = 98), die primiparen Sauen (n = 45) und die Altsauen (n = 161) gehören zur Stammherde. Die Jungsauen in der Quarantäne (n = 38) befinden sich kurz vor der Eingliederung in die Stammherde.

Tabelle 5: Anzahl (n) und Anteil (%) der Sauen unter Berücksichtigung ihrer jeweiligen Paritätsgruppe.

Bezeichnung	Paritätsgruppe	Sauenherde	
		(n)	%
Jungsau (Quarantäne)	QS	38	11
Jungsau	JS	98	29
Primipare Sau	PPS	45	13
Altsau	AS	161	47
Sauen gesamt		342	100

2. Probenauswertung

2.1. Blutproben

Insgesamt konnten Blutproben von 304 Stammsauen und 38 Jungsauen in der Quarantäne ausgewertet werden.

2.2. Speichelproben

Voraussetzung für die Speichelprobenentnahme mittels Watterolle war, dass das Schwein diese durch Kauen mindestens 20 bis 30 Sekunden durchfeuchtet. Zu gering durchfeuchtete Watterollen wurden verworfen. Dadurch flossen insgesamt 270 individuelle Speichelproben von 214 Stammsauen und von 21 Jungsauen in der Quarantäne in die Studie ein.

2.3. Kotproben

Die Kotproben von 304 Stammsauen und 38 Jungsauen in der Quarantäne wurden ausgewertet.

3. Ergebnisse der labordiagnostischen Untersuchungen

3.1. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung

Serum-, Speichel-, und Kotproben wurden molekularbiologisch auf das Vorhandensein von PCV2-DNA untersucht.

Insgesamt waren 7,0 % (24/342) aller untersuchten Serumproben PCV2-DNA positiv. In den Speichelproben konnte PCV2-DNA mit einer Prävalenz von 6,0 % (14/235) nachgewiesen werden. Aus allen untersuchten Kotproben gelang bei 7,3 % (25/342) ein PCV2-DNA Nachweis.

3.1.1. Ergebnisse der Untersuchungsmaterialien in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe

Die qualitativen Ergebnisse in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe sind in Abbildung 1 dargestellt.

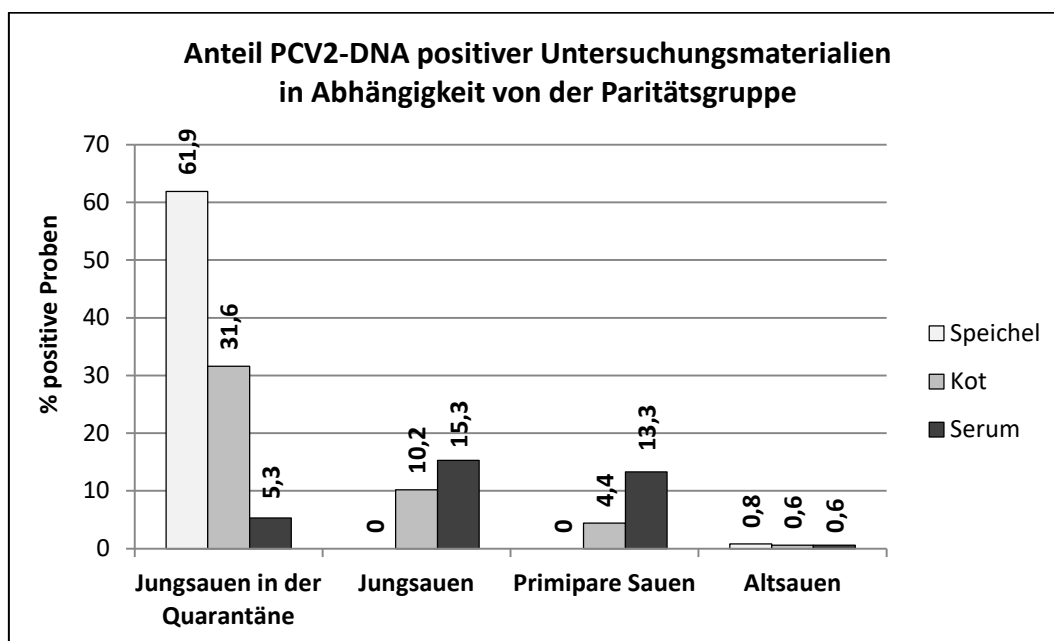


Abbildung 1: Anteil der PCV2-DNA positiven Untersuchungsmaterialien (Speichel, Kot und Serum) in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe.

3.1.1.1. Serum

Die höchste Nachweisrate PCV2-DNA positiver Serumproben verzeichnete mit 15,3 % (15/98) die Gruppe der Jungsauen. Die zweithöchste Nachweisrate PCV2-DNA positiver Serumproben wurde mit 13,3 % (6/45) bei den primiparen

Sauen ermittelt.

Dabei zeigte sich, dass die Nachweisrate PCV2-DNA positiver Serumproben in der Gruppe der Jungsauen signifikant über der von den Altsauen lag (JS: 15,3 %; AS: 0,6 %) ($p < 0,001$). Dementsprechend war die Chance, PCV2-DNA positive Serumproben bei Jungsauen zu finden 28fach höher als bei den Altsauen (OR: 28,92 KI: 3,75 – 222,73; $p = 0,001$). Der Anteil PCV2-DNA positiver Serumproben war sowohl bei den primiparen Sauen (13,3 %) als auch bei den Jungsauen in der Quarantäne (5,3 %) signifikant höher als bei den Altsauen (0,6%). (PPS – AS: $p < 0,001$; QS – AS: $p = 0,035$). Die OR für den Nachweis PCV2-DNA positiver Serumproben lag bei primiparen Sauen im Vergleich zu Altsauen bei 24,62 (KI: 2,88 – 210,43; $p < 0,001$).

Aus den PCV2-DNA positiven Seren der Sauen ($n = 24$) konnten im Mittel $1,98 \times 10^3$ Genomkopien/ml nachgewiesen werden (Min: $3,40 \times 10^2$ c/ml; Max: $2,22 \times 10^4$ c/ml; SD: $4,39 \times 10^3$ c/ml). Die Tabelle 6 zeigt den mittleren PCV2-DNA Gehalt im Serum der Sauen in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe. Zwischen den einzelnen Paritätsgruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der PCV2-DNA Menge im Serum der positiven Tiere ($p = 0,680$).

Tabelle 6: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Seren auf PCV2-DNA in Genomkopien/ml (c/ml) in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe (PG).

PG	n (pos.)	MW (c/ml)	Min	Max	SD
QS	2	8,10E+02	7,80E+02	8,40E+02	4,24E+02
JS	15	2,64E+03	4,00E+02	2,22E+04	5,50E+03
PPS	6	9,37E+02	3,40E+02	1,98E+03	5,99E+02
AS	1	6,40E+02	6,40E+02	6,40E+02	

3.1.1.2. Speichel

Die meisten PCV2-DNA positiven Speichelproben stammten mit 61,9 % (13/21) von Jungsauen in der Quarantäne.

Die Nachweisrate PCV2-DNA positiver Speichelproben war in der Gruppe der Jungsauen in der Quarantäne signifikant höher als in der Gruppe der Altsauen

(QS: 61,9 %; AS: 0,8 %) ($p < 0,001$). Die Chance PCV2-DNA positive Speichelproben zu detektieren lag demnach bei Jungsauen in der Quarantäne 190fach höher als bei den Altsauen (OR: 190,13; KI: 22,01 – 1642,71; $p < 0,001$). Die Prävalenz PCV2-DNA positiver Speichelproben von Jungsauen in der Quarantäne (QS: 61,9 %) war im Vergleich zu den primiparen Sauen (PPS: 0 %) und den Jungsauen (JS: 0 %) signifikant höher ($p < 0,001$). Die Chance PCV2-DNA positive Speichelproben zu finden lag demzufolge bei Jungsauen in der Quarantäne 93-mal höher als bei den primiparen Sauen (OR: 93,71; KI: 5,03 – 1744,44; $p = 0,002$) sowie 214-mal höher als bei den Jungsauen (OR: 214,41; KI: 11,66 – 3941,68; $p < 0,001$).

Aus den PCV2-DNA positiven Speichelproben der Sauen ($n = 14$) konnten im Mittel $5,58 \times 10^3$ Genomkopien/ml nachgewiesen werden (Min: $3,40 \times 10^2$ c/ml; Max: $4,90 \times 10^4$ c/ml; SD: $1,3 \times 10^4$ c/ml). Der mittlere PCV2-DNA Gehalt positiver Speichelproben der Sauen ist in Abhängigkeit der Paritätsgruppe in Tabelle 7 dargestellt. Zwischen den einzelnen Paritätsgruppen bestanden keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Viruslast im Speichel der positiven Tiere ($p = 0,214$).

Tabelle 7: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Speichelproben auf PCV2-DNA in Genomkopien/ml (c/ml) in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe (PG).

PG	n (pos.)	MW (c/ml)	Min	Max	SD
QS	13	5,98E+03	3,40E+02	4,90E+04	1,36E+04
AS	1	3,80E+02	3,80E+02	3,80E+02	

3.1.1.3. Kot

Der Anteil PCV2-DNA positiver Kotproben war mit 31,6 % (12/38) bei den Jungsauen in der Quarantäne am höchsten. Der zweithöchste Anteil PCV2-DNA positiver Kotproben wurde mit 10,2 % (10/98) bei den Jungsauen ermittelt.

Die Jungsauen in Quarantäne (QS: 31,6 %) zeigten eine signifikant höhere Prävalenz PCV2-DNA positiver Kotproben im Vergleich zu den Altsauen (AS: 0,6 %) ($p < 0,001$). Insofern lag die Chance PCV2-DNA positive Kotproben bei Jungsauen in der Quarantäne zu finden 73-mal höher als bei den Altsauen

(OR: 73,85; KI: 9,21 – 592,11; $p < 0,001$). Zugleich war die Nachweisrate PCV2-DNA positiver Kotproben der Jungsauen in der Quarantäne (QS: 31,6 %) im Vergleich zu den Jungsauen (JS: 10,2 %) und den primiparen Sauen (PPS: 4,4 %) signifikant höher (QS – JS: $p = 0,002$), (QS – PPS: $p = 0,001$). Die OR für den Nachweis PCV2-DNA positiver Kotproben lag bei Jungsauen in der Quarantäne im Vergleich zu den Jungsauen bei 4,06 (KI: 1,58 – 10,46; $p = 0,004$) bzw. für Jungsauen in der Quarantäne im Vergleich zu den primiparen Sauen bei 9,92 (KI: 2,06 – 47,90; $p = 0,004$). Die Prävalenz PCV2-DNA positiver Kotproben war bei den Jungsauen signifikant höher als bei den Altsauen (JS: 10,2 %, AS: 0,6 %; $p < 0,001$). Insofern haben Jungsauen im Vergleich zu Altsauen eine 18fach erhöhte Chance für den Nachweis von PCV2-DNA in Kotproben (OR: 18,18; KI: 2,29 – 144,39; $p = 0,006$).

3.1.2. Ergebnisse der Untersuchungsmaterialien in Abhängigkeit von der Wochengruppe

Die qualitativen Ergebnisse in Abhängigkeit von der Wochengruppe der Stammherde sind in Tabelle 8 dargestellt. Die Jungsauen in der Quarantäne ($n = 38$) wurden hierbei nicht berücksichtigt, da sie sich zum Zeitpunkt der Beprobung in der Quarantäne befanden und demnach noch nicht zur Stammherde zählten.

Tabelle 8: Anteil PCV2-DNA positiver Serum-, Speichel-, und Kotproben von Sauen aus der jeweiligen Wochengruppe sowie die untersuchte Probenanzahl (n) pro Gruppe.

Wochengruppen	Serum		Speichel		Kot	
	n/ Gruppe	% pos./ Gruppe	n/ Gruppe	% pos./ Gruppe	n/ Gruppe	% pos./ Gruppe
2. Woche post partum	38	0	38	0	38	0
4. Woche post partum	38	2,6	38	2,6	38	0
2. Woche tragend	38	7,9	20	0	38	10,5
5. Woche tragend	38	15,8	21	0	38	10,5
7. Woche tragend	38	10,5	23	0	38	7,9
10. Woche tragend	38	5,3	27	0	38	0
12. Woche tragend	38	2,6	29	0	38	2,6
15. Woche tragend	38	13,2	18	0	38	2,6
Gesamt	(n) 304	% pos. 7,2	(n) 214	% pos. 0,5	(n) 304	% pos. 4,3

Zur vereinfachten Darstellung erfolgte die Zusammenfassung der acht Wochengruppen entsprechend des Produktionsstatus in drei Gruppen: niedertragende Sauen (2., 5., und 7. Trächtigkeitswoche), hochtragenden Sauen (10., 12., und 15. Trächtigkeitswoche) und Sauen in der Abferkelung (2. und 4. Woche post partum). Die qualitativen Ergebnisse entsprechend der vereinfachten Gruppen (niedertragende Sauen: NT, hochtragende Sauen: HT, Abferkelung: AF) sind in der Abbildung 2 dargestellt.

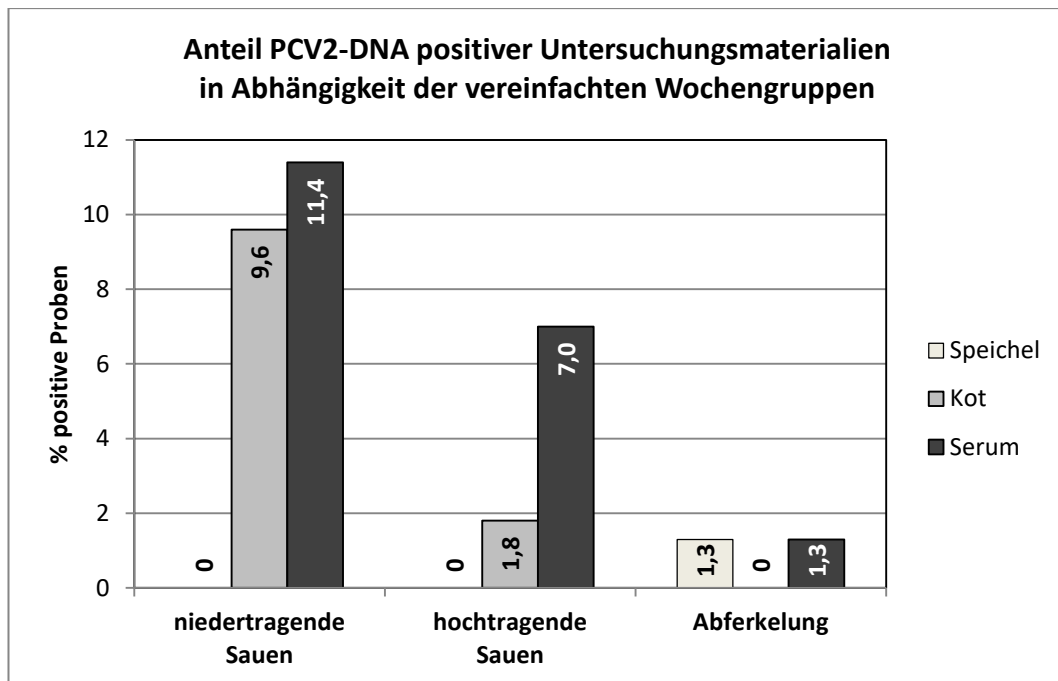


Abbildung 2: Die Wochengruppen 1 bis 8 sind zusammengefasst dargestellt: niedertragende Sauen (2., 5., u. 7. Trächtigkeitswoche), hochtragende Sauen (10., 12., u. 15. Trächtigkeitswoche) und Sauen in der Abferkelung (2. und 4. Woche p. p.). Dargestellt ist der Anteil der PCV2-DNA positiven Untersuchungsmaterialien (Speichel, Kot und Serum) in Abhängigkeit von den vereinfachten Wochengruppen. Die Jungsau in der Quarantäne (QS) sind in dieser Darstellung nicht berücksichtigt.

3.1.2.1. Serum

Die PCV2-DNA Prävalenz ist in der Gruppe der niedertragenden Sauen mit 11,4 % (13/114) am höchsten.

Dabei war der Anteil PCV2-DNA positiver Serumproben bei den niedertragenden Sauen (11,4 %) signifikant höher als in der Abferkelung (1,3 %) ($p = 0,009$). Die OR für den Nachweis PCV2-DNA positiver Serumproben bei den niedertragenden Sauen lag im Vergleich zu den Sauen in der Abferkelung bei 9,65 (KI: 1,24 – 75,42; $p = 0,031$).

Aus den PCV2-DNA positiven Seren konnten im Mittel $2,08 \times 10^3$ Genomkopien/ml Serum nachgewiesen werden (Min: $3,40 \times 10^2$ c/ml; Max: $2,22 \times 10^4$; SD: $4,58 \times 10^3$ c/ml). Der mittlere PCV2-DNA Gehalt positiver Seren ist in Abhängigkeit der vereinfachten Wochengruppen in Tabelle 9 dargestellt. Zwischen den vereinfachten Wochengruppen bestand kein

signifikanter Unterschied in Bezug auf die Viruslast im Serum positiver Sauen ($p = 0,909$).

Tabelle 9: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Seren auf PCV2-DNA in Genomkopien/ml (c/ml) in Abhängigkeit von der vereinfachten Wochengruppe (WG).

vereinfachte WG	n (pos.)	MW (c/ml)	Min	Max	SD
NT	13	1,05E+03	4,00E+02	3,80E+03	8,67E+02
HT	8	3,92E+03	3,40E+02	2,22E+04	7,45E+03
AF	1	9,00E+02	9,00E+02	9,00E+02	

3.1.2.2. Speichel

Von den untersuchten Speichelproben der Sauenherde ($n = 214$) gelang bei einer Sau aus der Abferkelung (1/76) ein positiver PCV2-DNA Nachweis im Speichel. Der ermittelte PCV2-DNA Gehalt im Speichel dieser Sau betrug $3,8 \times 10^2$ c/ml.

3.1.2.3. Kot

Insgesamt war die Nachweisrate aus den Kotproben der niedertragenden Sauen mit 9,6 % (11/114) am höchsten.

Die Nachweisrate PCV2-DNA positiver Kotproben von niedertragenden Sauen (NT: 9,6 %) lag dabei signifikant über der der hochtragenden Sauen (HT: 1,8 %) ($p = 0,010$). Demnach lag die Chance PCV2-DNA positive Kotproben bei niedertragenden Sauen zu finden 5,98-mal höher als bei hochtragenden Sauen (OR: 5,98; KI: 1,29 – 27,63; $p = 0,022$). Der Anteil PCV2-DNA positiver Kotproben war in der Gruppe der niedertragenden Sauen (9,6 %) signifikant höher als in der Gruppe der Abferkelung (0 %) ($p = 0,005$). Die OR für den Nachweis PCV2-DNA positiver Kotproben ergab bei den niedertragenden Sauen im Vergleich zu den Sauen in der Abferkelung kein signifikantes Ergebnis (OR: 17,0; KI: 0,99 – 292,97; $p = 0,051$).

3.2. Ergebnisse der serologischen Untersuchung

Insgesamt waren 49,1 % (168/342) der untersuchten Serumproben positiv für Antikörper gegen PCV2 (132/342 = positiv; 36/342 = schwach positiv).

3.2.1. Ergebnisse der serologischen Untersuchung in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe

Die qualitativen Ergebnisse der serologischen Untersuchung in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe sind in Abbildung 3 dargestellt. Zwischen den Paritätsgruppen konnten, hinsichtlich der Prävalenz PCV2-spezifischer Antikörper im Serum, keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

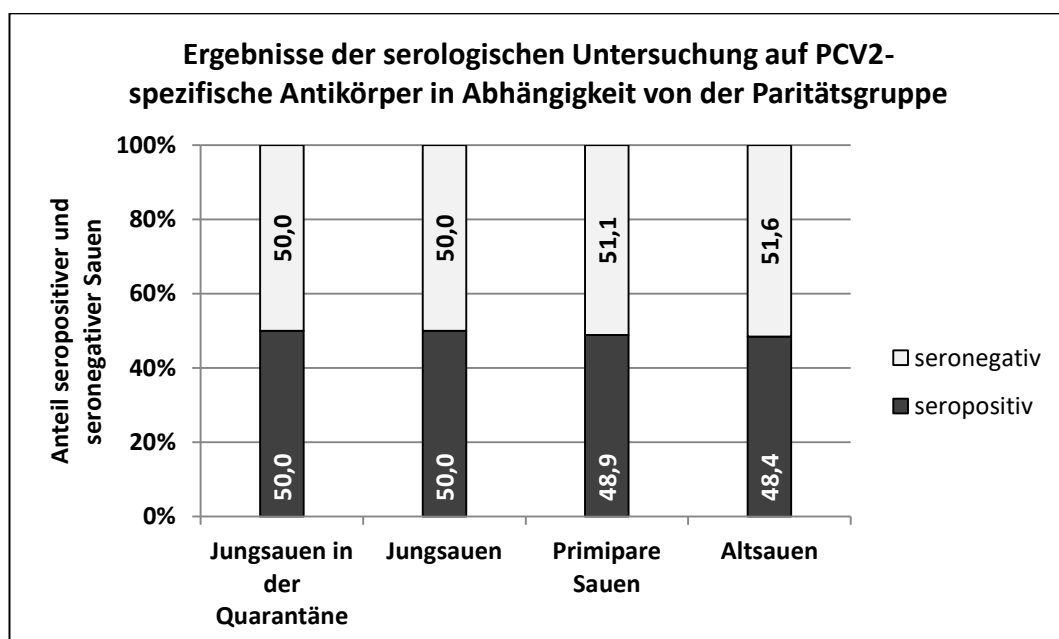


Abbildung 3: Anteile der PCV2-seropositiven und PCV2-seronegativen Proben unter Berücksichtigung der Paritätsgruppe.

3.2.2. Ergebnisse der serologischen Untersuchung in Abhängigkeit von der Wochengruppe

Die qualitativen Ergebnisse der serologischen Untersuchung in Abhängigkeit von der Wochengruppe sind in Abbildung 4 dargestellt. Die Jungsauen in der Quarantäne (n = 38) wurden hierbei nicht berücksichtigt (siehe Abb. 3).

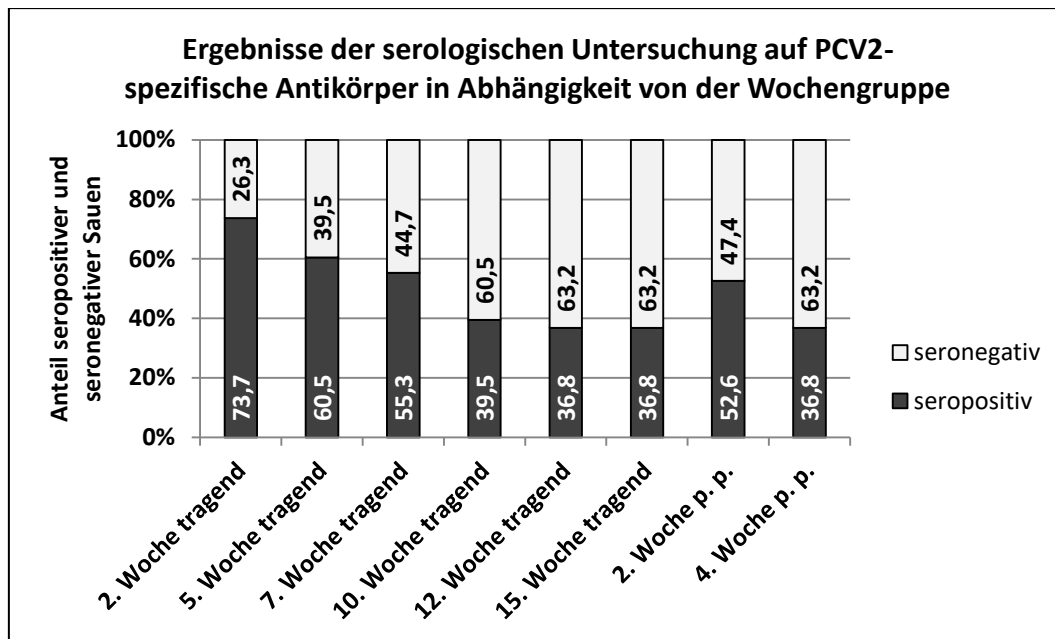


Abbildung 4: Anteile der PCV2-seropositiven und PCV2-seronegativen Proben unter Berücksichtigung der Wochengruppe.

Zur vereinfachten Darstellung erfolgte die Zusammenfassung der acht Wochengruppen in drei vereinfachten Wochengruppen: niedertragende Sauen, hochtragenden Sauen und Sauen in der Abferkelung (siehe 3.1.2). Die qualitativen Ergebnisse der serologischen Untersuchung sind in Abbildung 5 unter Berücksichtigung der vereinfachten Wochengruppen dargestellt.

Der Anteil seropositiver Sauen aus der Gruppe der niedertragenden Sauen (63,2 %) war dabei signifikant höher als in der Abferkelung (44,7 %) ($p = 0,012$). Demnach war die Chance seropositive Sauen zu finden in der Gruppe der niedertragenden Sauen 2,12-mal höher als in der Gruppe der Abferkelung (KI: 1,17 – 3,82; $p = 0,013$). Ebenfalls zeigte sich, dass der Anteil seropositiver niedertragender Sauen (63,2 %) signifikant über dem der hochtragenden Sauen (37,7 %) lag ($p < 0,001$). Die Chance für den Nachweis PCV2-spezifischer Antikörper war bei den niedertragenden Sauen im Vergleich zu den hochtragenden Sauen um das 2,83fache erhöht (KI: 1,65 – 4,84; $p < 0,001$).

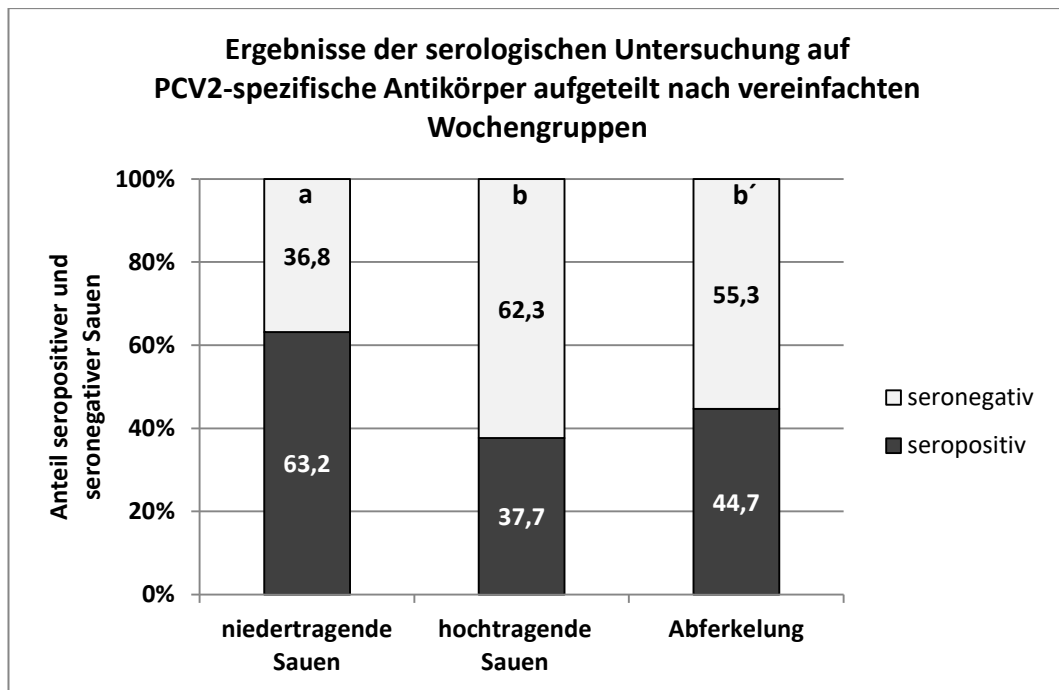


Abbildung 5: Anteile der PCV2-seropositiven und PCV2-seronegativen Proben unter Berücksichtigung der vereinfachten Wochengruppen. Die unterschiedlichen Buchstaben a, b und b' kennzeichnen signifikante Unterschiede (a und b: $p < 0,001$), (a und b': $p = 0,012$).

3.2.3. Ergebnisse der PCV2-DNA positiven Untersuchungsmaterialien in Abhängigkeit des IgG-Antikörperstatus der Sauen

Die Darstellung der PCV2-DNA positiven Untersuchungsmaterialien in Abhängigkeit des IgG-Antikörperstatus der Sauen ist in Abbildung 6 dargestellt. Dabei zeigte sich, dass zwischen dem Nachweis positiver Kotproben und dem Antikörperstatus ein signifikanter Zusammenhang bestand ($p = 0,005$). Die Chance PCV2-DNA positive Kotproben von seropositiven Sauen nachzuweisen war um das 3,57fache höher als bei seronegativen Sauen ($OR = 3,57$; $KI: 1,39 - 9,18$; $p = 0,008$).

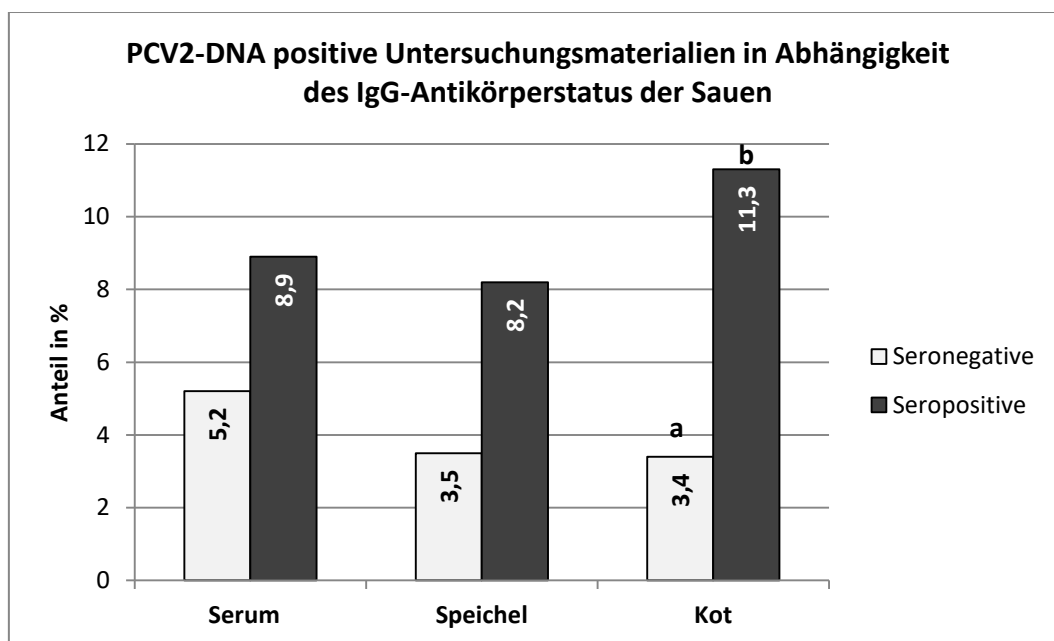


Abbildung 6: Anteile der PCV2-positiven Untersuchungsmaterialien (Serum, Speichel und Kot) in Abhängigkeit des IgG-Antikörperstatus der Sauen. Die Buchstaben a und b kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p = 0,005$).

V. DISKUSSION

1. Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen

1.1. Nachweise von PCV2-DNA bei Sauen

Insgesamt konnte bei 7,0 % aller in die Studie eingeschlossenen Sauen PCV2-DNA im Serum nachgewiesen werden. Die Auswertung der Speichelproben ergab bei 6,0 % einen positiven PCV2-DNA Nachweis und der Anteil PCV2-DNA positiver Kotproben lag in der vorliegenden Arbeit bei 7,3 %. Im internationalen Vergleich scheinen die PCV2-Prävalenzen dieser Sauenherde verhältnismäßig niedrig. So beschreiben SHEN et al. (2010) eine PCV2-DNA Prävalenz von 47,2 % im Serum von Sauen. DVORAK et al. (2013) ermittelten mit 73,0 % virämischer Sauen eine noch höhere PCV2-DNA Prävalenz. Bei der Interpretation der Ergebnisse der vorliegenden Studie muss jedoch beachtet werden, dass es sich bei dem Studienbetrieb um einen Jungsauenvermehrter mit hohem Gesundheitsstatus handelt. Sowohl Koinfektionen als auch ein schlechter Gesundheitsstatus zählen zu den prädisponierenden Faktoren hinsichtlich der Ausprägung einer PCV2-Infektion (MADEC et al., 2008). Schwere Verläufe einer PCV2-Infektion sind durch klinische Anzeichen gekennzeichnet (SEGALÉS, 2012) und gehen mit einer hohen Viruslast im Serum der Tiere einher (BRUNBORG et al., 2004). In der vorliegenden Studie lag der mittlere PCV2-DNA Gehalt im Serum der 24 positiven Sauen bei $1,98 \times 10^3$ Genomkopien/ml. Damit liegt der Wert unter dem von BRUNBORG et al. (2004) als klinisch relevant betrachteten Grenzwert von 10^7 Genomkopien/ml Serum. Des Weiteren zeigte die Herde in der vorliegenden Untersuchung keine Anzeichen einer klinischen Erkrankung und ist daher als subklinisch mit PCV2-infiziert einzustufen.

Die Ergebnisse von Studien mit vergleichbarem Aufbau waren möglicherweise beeinflusst durch die Betriebsformen aus denen die Sauen stammten oder resultierten aus anderen Regionen und Zeiten (SHEN et al., 2010; DVORAK et al., 2013). In diesen Studien lagen die PCV2-DNA Prävalenzen in den verschiedenen Untersuchungsmaterialien höher, als die von DVORAK et al. (2013) beschriebenen Nachweishäufigkeiten im Serum (73,0 %), im Speichel (80,0 %)

und im Kot (42,0 %) zeigten. Auch die Ergebnisse einer Studie von SHEN et al. (2010), deren Sauen aus konventionellen Ferkelerzeugerbetrieben stammten, verzeichneten mit 47,2 % deutlich mehr PCV2-DNA positive Serumproben von Sauen in der Abferkelung. Dass die Nachweisraten von PCV2-DNA bei Sauen jedoch auch in konventionellen Ferkelerzeugerbetrieben niedrig sein können, zeigten EDDICKS et al. (2016) bei einer Prävalenzstudie in Bayern. Wenngleich nur Daten von Sauen aus der Abferkelung vorliegen, sind diese mit einem Anteil von 1,0 % virämischer Sauen ähnlich niedrig wie in der vorliegenden Arbeit. Ebenso bewegen sich die Nachweisraten der PCV2-DNA positiven Speichel- und Kotproben mit jeweils 0,5 % in einem vergleichbar niedrigen Bereich (EDDICKS et al., 2016). Eine Begründung für die vergleichsweise geringen Nachweisraten virämischer Sauen und die niedrige Anzahl PCV2-DNA positiver Speichel- und Kotproben liegen für EDDICKS et al. (2016) in der zufälligen Auswahl der Studienbetriebe. Zusätzlich diskutieren die Autoren, ob der Einschluss von ausschließlich gesunden Sauen möglicherweise die geringe Anzahl der virämischen Sauen erklärt (EDDICKS et al., 2016). Ebenso könnte es durch die häufig eingesetzte PCV2-Impfung in deutschen Betrieben zu einer Reduzierung des Infektionsdrucks für Sauen und Ferkel kommen. Diese Beobachtungen machten auch DVORAK et al. (2016) beim Vergleich der PCV2-DNA Serumprävalenz amerikanischer Herden aus den Jahren 2006 und 2012. Sowohl die Viruslast von PCV2 im Serum der Schweine als auch die PCV2-DNA Serumprävalenz der amerikanischen Schweinepopulation konnte seit Einführung der Impfung reduziert werden (DVORAK et al., 2016).

Die Beobachtung, dass subklinisch mit PCV2-infizierte Sauen nur in geringem Anteil PCV2-DNA ausscheiden, konnten SHIBATA et al. (2003) nach Auswertung ihrer Ergebnisse bestätigen. SHIBATA et al. (2003) untersuchten sowohl Nasentupfer als auch Kotproben gesunder Schweine verschiedener Altersgruppen. Die Nachweisraten von PCV2-DNA bewegten sich bei der Auswertung der Kotproben und Nasentupfer der Sauen mit jeweils unter 5,0 % in einem ähnlichen Rahmen wie in der vorliegenden Studie (SHIBATA et al., 2003). Eine vergleichbare PCV2-DNA Prävalenz von 3,4 % im Serum von Sauen zum Zeitpunkt des Absetzens beschreiben RODRIGUEZ-ARRIOJA et al. (2002).

Während die Sauen der vorliegenden Studie keine klinischen Anzeichen einer PCV2-Erkrankung zeigten, war die Herde von RODRIGUEZ-ARRIOJA et al. (2002) von einem PMWS-Ausbruch betroffen, der fünf Monate vor Studienbeginn begann. Jedoch bestätigte sich durch die weiterführende Untersuchung der Nachkommen, dass Schweine auch ohne Anzeichen einer klinischen Erkrankung über einen längeren Zeitraum kontinuierlich oder intermittierend virämisch sein können (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002). Möglicherweise, so schlussfolgerten die Autoren, tragen diese Schweine zur Übertragung und Persistenz des Virus innerhalb einer Herde bei (RODRIGUEZ-ARRIOJA et al., 2002).

Basierend auf den Erkenntnissen dieser Studie zeigt sich, dass Sauenherden mit hohem Gesundheitsstatus subklinisch mit PCV2-infiziert sein können. Sowohl die Anzahl der PCV2-DNA ausscheidenden Sauen als auch der Anteil virämischer Sauen ist dabei vergleichsweise gering. Gleichzeitig zeigen die subklinisch mit PCV2-infizierten Sauen keine Anzeichen einer PCVD und sind daher nicht als solche zu erkennen. AFGHAH et al. (2017) bestätigen diese Einschätzung und sehen das Auftreten subklinischer Infektionen durch natürlich-zirkulierende Stämme auf Feldebene als großes Problem an. Dadurch könnten Koinfektionen möglicherweise verschärft und die allgemeine Immunantwort reduziert werden (AFGHAH et al., 2017). Für das Ziel, PCV2 zukünftig aus Schweinebeständen zu eliminieren, stellen die subklinisch mit PCV2-infizierten Herden die größte Herausforderung dar.

1.1.1. Einfluss der Paritätsgruppe auf die Nachweise von PCV2-DNA

Um den möglichen Einfluss der Parität auf den PCV2-DNA Nachweis in den verschiedenen Untersuchungsmaterialien bewerten zu können, erfolgte eine Einteilung der Sauen anhand ihrer Parität. Die noch unbelegten Jungsauen, die sich zum Zeitpunkt der Probennahme in Quarantäne befanden und ungefähr 180 Tage alt waren, wurden als Jungsauen in der Quarantäne (QS) bezeichnet. Jungsauen, die erstmals belegt und bereits in die Stammherde integriert waren, wurden in die Paritätsgruppe Jungsauen (JS) eingeordnet. Jungsauen, die während der Probennahme mit ihrem ersten Wurf in der Abferkelung waren, gehörten ebenfalls zur Paritätsgruppe der Jungsauen (JS). Die trächtigen Sauen, die bereits einmal geferkelt hatten, bildeten die Paritätsgruppe der primiparen

Sauen (PPS). Sauen mit zwei und mehr Würfen stellte die Paritätsgruppe der Altsauen dar.

In den untersuchten Serumproben konnte bei 15,3 % der Jungsauen und 13,3 % der primiparen Sauen PCV2-DNA nachgewiesen werden. Dabei lag die Nachweisrate im Serum von Jungsauen und primiparen Sauen sowie von den QS (5,3 %) signifikant über der von den Altsauen (0,6 %). Diese Beobachtungen decken sich mit den Ergebnissen einer Studie von SHIBATA et al. (2003), bei der die PCV2-DNA Prävalenz durch Untersuchung von Blut, Kot und Nasentupfern in Abhängigkeit der Altersgruppen ermittelt wurde. Schweine im Alter von drei bis sechs Monaten zeigten, im Vergleich zu Sauen, deutlich höhere PCV2-DNA Nachweisraten in allen drei Untersuchungsmaterialien (SHIBATA et al., 2003). Des Weiteren waren die PCV2-DNA Nachweisraten der vorliegenden Arbeit im Speichel (61,9 %) und Kot (31,6 %) von den Jungsauen in der Quarantäne signifikant höher als in den anderen Paritätsgruppen. Zusätzlich konnte in den Kotproben der Jungsauen (10,2 %) eine signifikant höhere PCV2-DNA Nachweisrate festgestellt werden als bei den Altsauen (0,6 %). Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass insbesondere die Jungsauen in der Quarantäne PCV2-DNA über Speichel und Kot ausscheiden, wodurch es möglicherweise zu einem verstärkten PCV2-Eintrag in die Stammherde kommen kann. Eine denkbare Begründung für die hohe PCV2-DNA Prävalenz im Speichel der QS könnte darin liegen, dass die QS des Studienbetriebes hauptsächlich aus der eigenen Nachzucht und demzufolge aus einer subklinisch mit PCV2-infizierten Herde stammten. Subklinisch mit PCV2-infizierte Muttersauen bringen dann ebenso gesunde und gleichzeitig infizierte Ferkel zur Welt, die später als Jungsauen in die Stammherde integriert werden.

Dass es durch subklinisch mit PCV2-infizierte Jungsauen verstärkt zu einer Virusübertragung in gesunden Herden kommen kann, zeigten MONROY et al. (2015), die sowohl virale DNA als auch neutralisierende Antikörper im Serum subklinisch infizierter Jungsauen und ihren gesunden Ferkeln nachwiesen. Die Jungsauen zeigten weder bei der Ankunft im Betrieb (135.-155. LT) noch in der anschließenden Quarantäne Anzeichen einer klinischen Erkrankung und dennoch gelang der PCV2-DNA Nachweis im Serum, woraufhin MONROY et al. (2015)

schlussfolgerten, dass diese Jungsauen bereits vor ihrer ersten Parität mit PCV2 infiziert waren. Für MONROY et al. (2015) stellen subklinisch PCV2-infizierte Jungsauen bei der Eingliederung in die Stammherde ein nicht zu unterschätzendes Risiko dar. Durch die PCV2-DNA Ausscheidung und die Geburt gesunder, aber infizierter Ferkel, tragen subklinisch PCV2-infizierte Jungsauen zur horizontalen und vertikalen Verbreitung in konventionellen Schweinebetrieben bei (MONROY et al., 2015). Ob das ausgeschiedene Material im Speichel der Sauen in der vorliegenden Arbeit infektiöses Virus enthielt wurde nicht untersucht. PATTERSON et al. (2011) zeigten in einem Infektionsversuch, dass die PCV2-Infektion durch nasale oder fäkale Sekrete möglich ist. Nach intranasaler Verabreichung von PCV2-DNA kontaminierten nasalen Sekreten und der Verfütterung von PCV2-DNA kontaminiertem Kot konnten PATTERSON et al. (2011) in zuvor naiven Schweinen innerhalb von 35 Tagen eine Seroconversion nachweisen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die Paritätsgruppe erheblichen Einfluss auf die Nachweisrate von PCV2-DNA in Serum, Speichel und Kot von Sauen hat. Im Gegensatz dazu konnten EDDICKS et al. (2016) keinen Zusammenhang zwischen der Parität der Sauen und der Höhe der Viruslast feststellen. Allerdings gilt es zu bedenken, dass die Probennahme in der Studie von EDDICKS et al. (2016) ausschließlich in der Abferkelung stattfand und dadurch weder trächtige Jungsauen noch Jungsauen in der Quarantäne untersucht wurden. Zusätzlich konnte anhand der vorliegenden Ergebnisse gezeigt werden, dass die Anzahl der Sauen, die PCV2-DNA über den Kot ausscheiden, mit zunehmender Parität der Sauen abnahm. Auch MCINTOSH et al. (2008) beschrieben die höchsten PCV2-Virusgenomnachweise im Kot gesunder Jungsauen und Mastschweine. Darüber hinaus zeigten sie, dass der Anteil PCV2-DNA negativer Kotproben mit zunehmendem Alter der Sauen ebenfalls anstieg (MCINTOSH et al., 2008). Ähnlich verhielten sich auch die in dieser Arbeit ermittelten PCV2-Prävalenzen im Serum, unter Berücksichtigung der Paritätsgruppen. Sowohl im Serum der Jungsauen als auch der primiparen Sauen konnten höhere Nachweisraten von PCV2-DNA ermittelt werden als bei den Altsauen. Zusätzlich war der mittlere PCV2-DNA Gehalt im Serum der

15 positiven Jungsauen mit $2,64 \times 10^3$ Genomkopien/ml Serum im Vergleich zu den Mittelwerten der anderen Paritätsgruppen am höchsten, wobei diese Unterschiede nicht signifikant waren ($p = 0,680$). Dabei zeigte keines der Tiere klinische Anzeichen einer PCVD oder überschritt den von BRUNBORG et al. (2004) als klinisch relevant betrachteten Grenzwert von 10^7 Genomkopien/ml Serum. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass PCV2 endemisch in der Sauenherde der vorliegenden Arbeit zirkuliert und es möglicherweise durch die Eingliederung der Jungsauen aus der Quarantäne zu einem wiederholten PCV2-Eintrag in die Stammherde kommt. Aufgrund des verstärkten PCV2-Eintrags kommt es zu einer Reinfektion der alten Stammsauen. Infolgedessen wird wiederkehrend das Immunsystem der Sauen stimuliert und eine effizientere Immunantwort ausgebildet. Auch KEKARAINEN und SEGALÉS (2015) beschreiben, dass die nach einer Infektion gebildeten spezifischen T-Gedächtniszellen lange Zeit persistieren und nach wiederholtem Antigenkontakt eine schnelle Vermehrung dieser stattfindet. Diese stabilere Immunitätslage könnte sowohl die beobachtete verminderte Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Speichel und Kot als auch den geringen Anteil virämischer Altsauen in dieser Studie erklären.

Dass zwischen der Dauer einer Virämie und dem Alter der Schweine eine Abhängigkeit besteht, wurde bereits für andere Virusinfektionen, wie beispielsweise einer Infektion mit dem PRRS-Virus beschrieben (YOON et al., 1993; CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 1995). Nach Infektion mit PRRSV kommt es bei adulten Schweinen zu einer deutlich kürzeren Virämie (CHRISTOPHER-HENNINGS et al., 1995) als bei Ferkeln (YOON et al., 1993). Die Erkenntnisse der vorliegenden Studie stimmen auch mit den Ergebnissen anderer Autoren überein. DIAS et al. (2013) beprobten 143 Sauen (erste bis zehnte Parität) jeweils an zwei Terminen und konnten bei 18 Sauen (13,3 %) aus wenigstens einer Serumprobe PCV2-DNA nachweisen. Die virämischen Sauen befanden sich maximal in der dritten Parität und 17 der 18 virämischen Sauen stammten aus einem Betrieb, in dem die Jungsauen nicht gegen PCV2 geimpft wurden (DIAS et al., 2013). Ähnliche Ergebnisse erzielten RODRIGUEZ-ARRIOJA et al. (2002), die eine PCV2-DNA Prävalenz bei den Nachkommen (28. LW) von 13,6 % in Verbindung mit einer geringeren Herdenprävalenz der Sauen von 3,4 %

ermittelten.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Paritätsgruppe einen erheblichen Einfluss auf den Nachweis von PCV2-DNA in den verschiedenen Untersuchungsmaterialien nimmt. Dabei stellt die Eingliederung subklinisch mit PCV2-infizierter Jungsauen ein großes Problem dar. Um den Eintrag von PCV2 in die Stammherde zukünftig zu minimieren wäre die frühzeitige Impfung der QS eine mögliche Maßnahme. Verschiedene Studien zeigten, dass die PCV2-Impfung sowohl die Viruslast im Serum (KIXMÖLLER et al., 2008) als auch die Ausscheidung von PCV2-DNA über das Kolostrum erheblich reduziert (GERBER et al., 2011). KURMANN et al. (2011) konnten einen drei- bis neunfachen Anstieg der Antikörpertiter im Serum von PCV2-geimpften Sauen beobachten. Demzufolge sollten auch die bereits integrierten Jungsauen und primiparen Sauen der Stammherde bei der Impfung berücksichtigt werden. In der Literatur wird eine mögliche Interferenz zwischen hohen maternalen Antikörpertitern und einer effektiven Immunantwort der Ferkel diskutiert (OPRIESSNIG et al., 2008a; HAAKE et al., 2014). Durch die stabile Immunitätslage der Altsauen könnten diese in einem zukünftigen Impfschema möglicherweise unberücksichtigt bleiben.

Eine weitere wichtige Erkenntnis dieser Arbeit ist es, dass zukünftig eine gezieltere Probennahme entsprechend der Fragestellung stattfinden kann. Besonders wichtig scheint in diesem Zusammenhang auch die Wahl des Untersuchungsmaterials zu sein. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass PCV2-DNA vor allem über den Speichel von Jungsauen in der Quarantäne ausgeschieden wird. Ebenso kann die Untersuchung von Kotproben von Jungsauen in der Quarantäne oder von bereits integrierten Jungsauen und primiparen Sauen ein geeignetes Untersuchungsmaterial für den PCV2-DNA Nachweis darstellen. Für einen PCV2-DNA Nachweis im Serum sollte bevorzugt das Serum von Jungsauen und primiparen Sauen, die sich zum Zeitpunkt der Blutentnahme zwischen der zweiten bis siebten Trächtigkeitswoche befinden, untersucht werden.

1.1.2. Einfluss der Wochengruppe auf die Nachweise von PCV2-DNA

Die Sauenherde der vorliegenden Untersuchung setzte sich aus acht Wochengruppen zusammen. Zur veranschaulichten Darstellung erfolgte die Zusammenfassung in drei vereinfachte Wochengruppen: niedertragende Sauen (2., 5., und 7. Trächtigkeitswoche), hochtragende Sauen (10., 12., und 15. Trächtigkeitswoche) und Sauen in der Abferkelung (2. und 4. Woche p. p.). Die Jungsauen in der Quarantäne sind dabei nicht berücksichtigt.

In Abhängigkeit der vereinfachten Wochengruppen waren die Nachweisraten von PCV2-DNA im Serum (11,4 %) und im Kot (9,6 %) von den niedertragenden Sauen am höchsten. Zusätzlich zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der PCV2-DNA Prävalenz von den niedertragenden Sauen (11,4 %) im Vergleich zu den Sauen in der Abferkelung (1,3 %). Während die einzige PCV2-DNA positive Speichelprobe von einer Sau aus der Abferkelung (1/76) stammte, waren die Kotproben der Sauen aus der Abferkelung alle PCV2-DNA negativ.

Zwischen der Wochengruppe und den PCV2-DNA Nachweisraten im Speichel und im Kot der Sauen konnte kein Zusammenhang festgestellt werden. Die Auswertung der Serumproben in Abhängigkeit der Wochengruppe zeigte jedoch, dass die PCV2-DNA Prävalenz insbesondere in der frühen Trächtigkeitsphase höher ist als in der Säugezeit. Für die Interpretation dieser Ergebnisse sollte berücksichtigt werden, dass in der frühen Phase der Trächtigkeit frisch belegte Jungsauen aus der Quarantäne in die Stammherde eingegliedert werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigten, dass 61,9 % der Jungsauen in der Quarantäne PCV2-DNA über den Speichel ausscheiden. Durch Eingliederung der Jungsauen kommt es möglicherweise zu einem verstärkten Eintrag von Virus-DNA in die Stammherde. Dies führt in der Phase der Eingliederung zu einer Reinfektion der Stammherde und folglich zu einer erhöhten PCV2-DNA Prävalenz in dieser Zeit. Aufgrund der PCV2-Reinfektion kommt es zu der vermehrten Bildung PCV2-spezifischer Antikörper und die Anzahl der seropositiven Sauen steigt. Die Interpretation der Ergebnisse dieser Studie wird durch die Auswertung der Seroprävalenz in Abhängigkeit der Wochengruppen bestätigt. In der zweiten und fünften Trächtigkeitswoche lag die Seroprävalenz der Wochengruppen jeweils bei 73,7 % und bei 60,5 %. Somit war, in Relation zu den anderen

Wochengruppen, der Anteil seropositiver Sauen in der frühen Phase der Trächtigkeit am höchsten. Diese Ergebnisse können nur begrenzt mit anderen Studien verglichen werden, da sich die meisten Angaben aus der Literatur auf die Sauen in der Abferkelung beziehen. DIAS et al. (2013) untersuchten die Seren der Sauen jeweils im Deckzentrum und in der Abferkelung und konnten dabei keinen Einfluss des Produktionsstatus auf die PCV2-DNA Prävalenz der Sauen festmachen.

2. Ergebnisse der serologischen Untersuchungen

2.1. Seroprävalenz der Sauen

Die Untersuchung des Serums aller 342 Sauen auf PCV2-spezifische Antikörper ergab eine Seroprävalenz von 49,1 % (168/342). Deutlich höhere Seroprävalenzen sind in anderen Studien beschrieben (SHEN et al., 2010; MONGER et al., 2014). In einer amerikanischen Studie können SHEN et al. (2010) bei 96,8 % der Sauen in der Abferkelung PCV2-spezifische Antikörper nachweisen. In Brasilien waren 100 % der Sauen sowohl in der Abferkelung als auch im Deckzentrum seropositiv (DIAS et al., 2013). MONGER et al. (2014) wiesen in einer Studie aus Bhutan bei 78 % von 101 Zuchtsauen (> 9 Monate) PCV2-spezifische Antikörper nach.

Eine mögliche Begründung für die vergleichsweise niedrige Seroprävalenz der Sauenherde in der vorliegenden Studie könnte in der Auswahl des Studienbetriebes liegen. Die Sauenherde dieser Studie zeigte in der Vergangenheit keinerlei klinische Anzeichen einer PCV2-Erkrankung. EDDICKS et al. (2016) wiesen in 39 von 198 Sauen (19,7 %) PCV2-Antikörper nach. Hier waren ebenfalls ausschließlich Sauen aus klinisch unauffälligen Betrieben in die Studie eingeschlossen. Umgekehrt sind hohe Seroprävalenzen vor allem in den Herden beschrieben, deren Sauen in der Vergangenheit klinische Anzeichen einer möglichen PCV2-Infektion zeigten (MONGER et al., 2014). Eine weitere Erklärung für die geringe Seroprävalenz der untersuchten Sauenherde liegt womöglich in der Art des jeweiligen Studienbetriebes. SHEN et al. (2010) wiesen in 96,8 % der untersuchten Sauen PCV2-spezifische Antikörper nach. Die Sauen gingen allesamt aus Betrieben der konventionellen Ferkelerzeugung hervor. Im

Gegensatz dazu entstammten die Sauen der vorliegenden Studie einem Jungsauenvermehrung-Betrieb, der neben einem überdurchschnittlich hohen Gesundheitsstatus innerhalb der Herde auch eine sehr gute Betriebshygiene vorwies. Zusätzlich gilt es zu bedenken, dass die Sauenherde in der vorliegenden Arbeit zu keiner Zeit gegen PCV2 geimpft wurde. Die Impfung gegen PCV2 führt zu einer Aktivierung der humoralen und zellulären Immunantwort (KEKARAINEN et al., 2010). Untersuchungen von LOPEZ-RODRIGUEZ et al. (2016) bestätigten, dass die Sauenimpfung gegen PCV2 zu einem Anstieg der PCV2-Antikörpertiter im Serum der Sauen führt. Demzufolge kann der Verzicht auf eine Sauenimpfung gegen PCV2 zu dauerhaft niedrigen PCV2-Antikörpertitern und infolgedessen zu einer geringeren Seroprävalenz innerhalb der ungeimpften Herde führen. Möglicherweise könnte auch die Altersstruktur der Herde ein beeinflussender Faktor im Zusammenhang mit einer geringen Seroprävalenz darstellen. Die verstärkte Zucht mit Altsauen würde den PCV2-Eintrag in die Herde reduzieren. Durch den fehlenden Stimulus zur Aktivierung des Immunsystems der Altsauen würden die PCV2-Antikörpertiter niedrig und infolgedessen die Seroprävalenz der ungeimpften Herde gering bleiben.

2.1.1. Seroprävalenz und Paritätsgruppe

Zwischen dem Anteil seropositiver Sauen und der Paritätsgruppe konnte in der vorliegenden Studie keine Abhängigkeit festgestellt werden. Der Anteil seropositiver Sauen lag in allen Paritätsgruppen (QS, JS, PPS und AS) zwischen 48,4 % – 50,0 %. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit decken sich mit den Beobachtungen aus der Studie von DVORAK et al. (2016), in der ebenfalls kein Zusammenhang zwischen der Parität und der Seroprävalenz von Sauen festgestellt wurde. Dass ältere Sauen häufiger seropositiv waren, zeigte sich in der Untersuchung von EDDICKS et al. (2016). Sauen mit über vier Würfen waren mit 31,8 % (28/88) signifikant häufiger seropositiv als Jungsauen (8,7 %) oder Sauen mit zwei bis vier Würfen (10,3 %) (EDDICKS et al., 2016). Im Unterschied zu der vorliegenden Arbeit erfolgte die Probennahme in der Studie von EDDICKS et al. (2016) ausschließlich bei Sauen in der Abferkelung. Der Vergleich dieser Ergebnisse mit denen der vorliegenden Arbeit ist demnach nicht möglich.

2.1.2. Seroprävalenz und Wochengruppen

In der vorliegenden Arbeit wurden Sauen aus acht Wochengruppen beprobt. Dabei befanden sich die Sauen der einzelnen Wochengruppen zum Zeitpunkt der Probennahme in unterschiedlichen Produktionszyklen; zwischen der zweiten Trächtigkeitswoche und der vierten Woche *post partum*. Der Anteil seropositiver Sauen war mit 73,7 % in der zweiten Trächtigkeitswoche am höchsten. Im Hinblick auf die darauffolgenden Trächtigkeitsstadien der einzelnen Wochengruppe nahm der Anteil seropositiver Sauen ab. Sauen, die sich zum Zeitpunkt der Probennahme in der 15. Trächtigkeitswoche befanden waren nur in 36,8 % PCV2-Antikörper positiv. Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass die Wochengruppe einen erheblichen Einfluss auf die PCV2-Seroprävalenz der Sauenherde nimmt. Der Anteil seropositiver niedertragender Sauen (63,2 %) lag signifikant über dem Anteil seropositiver hochtragender Sauen (37,7 %). Ebenfalls waren signifikant mehr niedertragende Sauen (63,2 %) PCV2-Antikörper positiv als Sauen in der Abferkelung (44,7 %).

Die untersuchte Sauenherde der hier vorliegenden Arbeit unterlag einer hohen Remontierungsrate von > 60 %. Die Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchungen zeigen, dass innerhalb der Sauenherde vor allem Jungsauen in der Quarantäne PCV2-DNA über Kot und Speichel ausscheiden. Die Eingliederung der Jungsauen bei niedertragenden Sauen erklärt womöglich den vergleichsweise hohen Anteil seropositiver Sauen in diesen Wochengruppen. Integrierte Jungsauen scheiden vermehrt PCV2-DNA aus und führen zu einer Reinfektion der Altsauen in der Herde. Diese natürliche Reinfektion der Sauen zeigt sich durch vermehrt PCV2-seropositive Sauen in der zweiten bis siebten Trächtigkeitswoche.

Eine Erklärung für die geringe Seroprävalenz in den Wochengruppen der hochtragenden Sauen liegt möglicherweise in der Zusammensetzung des Kolostrums. Nach einer Untersuchung von BOURNE und CURTIS (1973) stammen die kolostralen Immunglobuline G aus dem Serum der Muttersauen. Womöglich kommt es in der Endphase der Trächtigkeit zu einem PCV2-IgG Antikörpertransfer aus dem Serum der Muttersauen in das Kolostrum. Dieser Transfer führt zu einer Abnahme der PCV2-Antikörpertiter und folglich zu einer

niedrigen Seroprävalenz bei hochträchtigen Sauen. KURMANN et al. (2011) konnten ebenso nachweisen, dass die Antikörpertiter ungeimpfter Muttersauen zur Endphase der Trächtigkeit abnehmen und führten dies gleichermaßen auf die vermehrte Weitergabe der Antikörper in das Kolostrum zurück.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass der Zeitpunkt der Probennahme einen erheblichen Einfluss auf die Seroprävalenz einer Sauenherde nimmt. Der Immunstatus von Muttersauen ist durch die verschiedenen Trächtigkeitsstadien einem stetigen Wechsel unterworfen. Hohe PCV2-Seroprävalenzen von über 90 % sind in Studien beschrieben, in denen Sauen aus ein oder maximal zwei Produktionsstadien beprobt wurden (SHEN et al., 2010; DIAS et al., 2013). Daher sind allgemeingültige Aussagen zur PCV2-Herdenprävalenz nur dienlich, sofern Sauen aus allen Wochengruppen in die Probennahme eingeschlossen werden.

3. PCV2-DNA Nachweise in Abhängigkeit der Seroprävalenz

In Abhängigkeit von der Seroprävalenz konnte sowohl bei seronegativen als auch bei seropositiven Sauen PCV2-DNA in den verschiedenen Untersuchungsmaterialien (Serum, Speichel und Kot) nachgewiesen werden. Dennoch war in den Untersuchungsmaterialien seropositiver Sauen häufiger PCV2-DNA nachweisbar als in den Untersuchungsmaterialien seronegativer Sauen. Die Chance auf den Nachweis PCV2-DNA positiver Kotproben war bei seropositiven Sauen um das 3,57fache höher als bei seronegativen Sauen. Die Kombination aus PCV2-spezifischem Antikörpernachweis im Blut und PCV2-DNA Nachweisen im Kot betraf in der vorliegenden Untersuchung ausschließlich Jungsauen in der Quarantäne, integrierte Jungsauen oder primipare Sauen. Um nach einer natürlichen Infektion mit PCV2 das Virus zu eliminieren, spielen sowohl neutralisierende Antikörper als auch die zellvermittelte Immunantwort eine wichtige Rolle (DARWICH und MATEU, 2012). Anscheinend ist das Immunsystem dieser jüngeren Sauen in der vorliegenden Arbeit noch nicht in der Lage, das Virus vollständig zu neutralisieren. GERBER et al. (2011) zeigten in ihrer Studie, dass Sauen sowohl über das Kolostrum als auch über die Milch infektiöses PCV2-Virus in Gegenwart neutralisierender Antikörper ausscheiden. Auch

MCINTOSH et al. (2006) gelang der Nachweis von PCV2-DNA im Serum von Schweinen in Gegenwart hoher PCV2-spezifischer Antikörpertiter. Gleichzeitig beschreiben die Autoren das Auftreten intermittierender Virämien und vermuten, dass die PCV2-spezifischen Antikörper von Schweinen aus endemisch mit PCV2-infizierten Herden in stetiger Konkurrenz mit dem Virus stehen (MCINTOSH et al., 2006).

VI. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit sollte das Vorkommen des porcinen Circovirus Typ 2 sowie die Prävalenz für PCV2-spezifische Antikörper in einer Sauenherde untersucht werden. Folgende Hypothesen wurden überprüft:

- 1) Basierend auf der Annahme, dass eine PCV2-Virämie vor allem bei Schweinen mit einem Alter von 17 - 24 Wochen nachgewiesen werden kann, haben Jungsauen einen besonderen Stellenwert für den Erhalt einer PCV2-Infektion in einer Sauenherde.
- 2) Bedingt durch den sich ständig ändernden humoralen Immunstatus produktiver Muttersauen, steht der Nachweis einer PCV2-Virämie und PCV2-Ausscheidung in Zusammenhang mit dem jeweiligen Produktionsstatus (Wochengruppe) der Muttersauen.

Die vorliegende Arbeit wurde als Querschnittsuntersuchung durchgeführt. Um die PCV2-Prävalenz virämischer und seropositiver Sauen bewerten zu können, wurden 342 Tiere in die Studie eingeschlossen. Der Studienbetrieb war ein Jungsauenvermehrter mit einer Stammherde von etwa 400 Muttersauen. Die Stammherde war insgesamt eingeteilt in acht Wochengruppen. Die Wochengruppen befanden sich zum Zeitpunkt der Probennahme in unterschiedlichen Produktionszyklen (zweite Trächtigkeitswoche bis vierte Woche p. p.). Von 304 Sauen der Stammherde (je 38 Sauen/Wochengruppe) und 38 Jungsauen in der Quarantäne wurden einmalig Blut- und Kotproben entnommen. Zusätzlich erfolgte die Gewinnung von Speichelproben bei 214 Sauen der Stammherde und bei 21 Jungsauen in der Quarantäne. Die gewonnenen Serum-, Speichel- und Kotproben wurden mithilfe einer real-time PCR auf PCV2-DNA untersucht. Die Serumproben wurden mittels ELISA auf das Vorkommen spezifischer PCV2-Antikörper (IgG) getestet.

Die molekularbiologische Untersuchung ergab eine PCV2-DNA Prävalenz von 7,0 % (24/342) im Serum, 6,0 % (14/235) im Speichel und 7,3 % (25/342) im Kot. Keines der Tiere zeigte klinische Anzeichen einer PCVD und der höchste PCV2-DNA Gehalt im Serum lag mit $2,2 \times 10^4$ Genomkopien/ml Serum unter dem

klinisch relevanten Bereich. Demzufolge wurde die Studienherde als subklinisch mit PCV2-infiziert eingestuft.

Die Auswertung der labordiagnostischen Ergebnisse erfolgte unter Berücksichtigung der Paritätsgruppe sowie der Wochengruppe der Sauen. Dabei zeigte sich, dass die Paritätsgruppe der Sauen (Jungsauen in der Quarantäne, Jungsauen, primipare Sauen, Altsauen) einen erheblichen Einfluss auf die Nachweisrate von PCV2-DNA in Serum, Speichel und Kot nahm. Bei den Jungsauen in der Quarantäne waren 61,9 % der untersuchten Speichelproben und 31,6 % der untersuchten Kotproben PCV2-DNA positiv. Die Nachweishäufigkeit von PCV2-DNA in Speichel und Kot von Jungsauen in der Quarantäne war damit signifikant höher als in den anderen Paritätsgruppen. Den höchsten Anteil virämischer Tiere verzeichneten die bereits integrierten Jungsauen (15,3 %) und die primiparen Sauen (13,3 %). Insgesamt konnten bei 49,1 % (168/342) der Sauen PCV2-spezifische Antikörper nachgewiesen werden. Dabei zeigte sich, dass der Produktionsstatus der Sauen eine bedeutende Auswirkung auf den Anteil seropositiver Sauen hatte. Der höchste Anteil seropositiver Sauen konnte mit 73,7 % in der zweiten Trächtigkeitswoche festgestellt werden. Mit fortgeschrittener Trächtigkeit nahm die Seroprävalenz der einzelnen Sauengruppen ab und war in der 15. Trächtigkeitswoche mit 36,8 % seropositiver Sauen am geringsten.

Die zu überprüfenden Hypothesen dieser Studie können wie folgt beantwortet werden: Der besondere Stellenwert der Jungsauen konnte hinsichtlich des PCV2-Eintrags in die Herde belegt werden. Ebenso konnte bestätigt werden, dass der Produktionsstatus der Muttersau im Zusammenhang mit dem PCV2-Antikörperstatus steht. Hinsichtlich der PCV2-Virämie und PCV2-Ausscheidung zeigte sich, dass nicht der Produktionsstatus der Sau, sondern die Paritätsgruppe als beeinflussendes Merkmal anzusehen ist.

VII. SUMMARY

The object of the present study was to evaluate the occurrence of porcine circovirus type 2 and the prevalence of PCV2 specific antibodies in a sow herd: The following hypotheses were tested:

- 1) Based on the assumption that PCV2 viremia can be detected mainly in pigs at the age of 17 - 24 weeks, gilts are especially significant for the preservation of a PCV2 infection in a sow herd.
- 2) Due to the constantly changing humoral immune status of productive sows, the evidence of PCV2 viremia and PCV2 excretion is related to the respective production status of the sows.

The present study was conducted as a cross-sectional study. To assess the PCV2 prevalence of viremic and seropositive sows, 342 animals were included in the study. The study farm was a sow multiplier farm with 400 sows. The main herd consisted of eight groups. The sows of each group were in different production cycles at the time of sampling (second week of gestation – fourth week p. p.). Blood and feces samples were once collected from 304 sows of the main herd (38 sows per production cycle) and 38 gilts in the quarantine area. Additionally, saliva samples were collected from 214 main herd sows and from 21 gilts in the quarantine area. The serum, saliva and feces samples were tested with a real-time PCR for PCV2-DNA. The serum samples were examined by an ELISA to detect specific PCV2-antibodies (IgG).

The molecular biological investigations revealed a PCV2-DNA prevalence of 7.0 % (24/342) in serum, 6.0 % (14/235) in saliva and 7.3 % (25/342) in feces. None of the animals showed clinical signs of PCVD and the highest PCV2-DNA level with 2.2×10^4 genomes per ml serum was below the clinically relevant cut off. Thus, the study herd was considered to be subclinically infected with PCV2.

The laboratory diagnostic results were evaluated in consideration of the parity group and the production status of the sows. It was shown that the parity group of the sows (gilts in quarantine, gilts, primiparous sows, older sows) had a significant influence on the detection rate of PCV2-DNA in serum, saliva and

feces. For the gilts in quarantine, 61.9 % of the saliva samples and 31.6 % of the feces samples tested positive for PCV2-DNA. The detection rate of PCV2-DNA in the saliva and feces samples of gilts in quarantine was significantly higher than with other parity groups. The highest percentage of viremic animals was recorded with the integrated gilts (15.3 %) and the primiparous sows (13.3 %). In 49.1 % (168/342) of all sows, specific antibodies against PCV2 were detectable. It was clearly demonstrated that the respective production status of the sows had a significant impact on the percentage of seropositive sows. The highest percentage of seropositive sows could be seen in the second week of gestation with 73.7 %. During gestation the seroprevalence in the individual sow groups was decreasing and was at its lowest in the 15th week of gestation with 36.8 %.

The hypothesis to be tested can be answered as follows: It was verified that particularly gilts in quarantine play a major role for the entry of PCV2 into main sow herds. It could also be confirmed that the stage of productivity of the mother sows is related to the PCV2-antibody status. Concerning PCV2-viremia and viral shedding it was revealed that not the stage of productivity of the sows but the parity group has to be regarded as an influencing feature.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Afghah Z, Webb B, Meng XJ, Ramamoorthy S. Ten years of PCV2 vaccines and vaccination: Is eradication a possibility? *Vet Microbiol* 2017; 206: 21-28.

Allan G, Krakowka S, Ellis J, Charreyre C. Discovery and evolving history of two genetically related but phenotypically different viruses, porcine circoviruses 1 and 2. *Virus Res* 2012; 164: 4-9.

Allan GM, Ellis JA. Porcine circoviruses: a review. *J Vet Diagn Invest* 2000; 12: 3-14.

Andraud M, Rose N, Grasland B, Pierre JS, Jestin A, Madec F. Influence of husbandry and control measures on porcine circovirus type 2 (PCV-2) dynamics within a farrow-to-finish pig farm: a modelling approach. *Prev Vet Med* 2009; 92: 38-51.

Baekbo P, Kristensen CS, Larsen LE. Porcine Circovirus Diseases: A review of PMWS. *Transbound Emerg Dis* 2012; 59: 60-67.

Baro J, Segales J, Martinez J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) enteric disease: An independent condition or part of the systemic disease? *Vet Microbiol* 2015; 176: 83-87.

Bolin SR, Stoffregen WC, Nayar GPS, Hamel AL. Postweaning multisystemic wasting syndrome induced after experimental inoculation of cesarean-derived, colostrum-deprived piglets with type 2 porcine circovirus. *J Vet Diagn Invest* 2001; 13: 185-194.

Bourne FJ, Curtis J. The transfer of immunoglobins IgG, IgA and IgM from serum to colostrum and milk in the sow. *Immunology* 1973; 24: 157-162.

Brunborg IM, Moldal T, Jonassen CM. Quantitation of porcine circovirus type 2 isolated from serum/plasma and tissue samples of healthy pigs and pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome using a TaqMan-based real-time PCR. *J Virol Methods* 2004; 122: 171-178.

Brunborg IM, Jonassen CM, Moldal T, Bratberg B, Lium B, Koenen F, Schonheit J. Association of myocarditis with high viral load of porcine circovirus type 2 in several tissues in cases of fetal death and high mortality in piglets. A case study. *J Vet Diagn Invest* 2007; 19: 368-375.

Calsamiglia M, Segales J, Quintana J, Rosell C, Domingo M. Detection of porcine circovirus types 1 and 2 in serum and tissue samples of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1848-1850.

Carasova P, Celer V, Takacova K, Trundova M, Molinkova D, Lobova D, Smola J. The levels of PCV2 specific antibodies and viremia in pigs. *Res Vet Sci* 2007; 83: 274-278.

Carman S, Cai HY, DeLay J, Youssef SA, McEwen BJ, Gagnon CA, Tremblay D, Hazlett M, Lusi P, Fairles J, Alexander HS, van Dreumel T. The emergence of a new strain of porcine circovirus-2 in Ontario and Quebec swine and its association with severe porcine circovirus associated disease – 2004-2006. *Can J Vet Res* 2008; 72: 259-268.

Cheung AK, Lager KM, Kohutyuk OI, Vincent AL, Henry SC, Baker RB, Rowland RR, Dunham AG. Detection of two porcine circovirus type 2 genotypic groups in United States swine herds. *Arch Virol* 2007; 152: 1035-1044.

Chiou MT, Yang CY, Chang TC, Chen C, Lin CF, Ye LJ. Shedding pattern and serological profile of porcine circovirus type 2 infection in cesarean-derived, colostrum-deprived and farm-raised pigs. *J Vet Med Sci* 2011; 73: 521-525.

Choi C, Chae C. In-situ hybridization for the detection of porcine circovirus in pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *J Comp Pathol* 1999; 121: 265-270.

Christopher-Hennings J, Nelson EA, Hines RJ, Nelson JK, Swenson SL, Zimmerman JJ, Chase CL, Yaeger MJ, Benfield DA. Persistence of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in serum and semen of adult boars. *J Vet Diagn Invest* 1995; 7: 456-464.

Crowther RA, Berriman JA, Curran WL, Allan GM, Todd D. Comparison of the structures of three circoviruses: chicken anemia virus, porcine circovirus type 2, and beak and feather disease virus. *J Virol* 2003; 77: 13036-13041.

Darwich L, Mateu E. Immunology of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Res* 2012; 164: 61-67.

Davies B, Wang X, Dvorak CMT, Marthaler D, Murtaugh MP. Diagnostic phylogenetics reveals a new Porcine circovirus 2 cluster. *Virus Res* 2016; 217: 32-37.

Deeks JJ, Higgins JP. Statistical algorithms in review manager 5. Statistical Methods Group of The Cochrane Collaboration 2010: 1-11.

Dias AS, Gerber PF, Araujo AS, Auler PA, Gallinari GC, Lobato ZI. Lack of antibody protection against Porcine circovirus 2 and Porcine parvovirus in naturally infected dams and their offspring. *Res Vet Sci* 2013; 94: 341-345.

Drolet R, Thibault S, D'Allaire S, Thomson JR, Done SH. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome (PDNS): An overview of the disease. *Swine Health Prod* 1999; 7: 283-285.

Drolet R, Larochelle R, Morin M, Delisle B, Magar R. Detection rates of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, and swine influenza virus in porcine proliferative and necrotizing pneumonia. *Vet Pathol* 2003; 40: 143-148.

Dupont K, Nielsen EO, Baekbo P, Larsen LE. Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case-control study supports a shift in genotypes with time. *Vet Microbiol* 2008; 128: 56-64.

Dupont K, Hjulsgaard CK, Kristensen CS, Baekbo P, Larsen LE. Transmission of different variants of PCV2 and viral dynamics in a research facility with pigs mingled from PMWS-affected herds and non-affected herds. *Vet Microbiol* 2009; 139: 219-226.

Duran CO, Render JA. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a new condition to include in the differential diagnosis list for skin discoloration in swine. *Swine Health Prod* 1997; 5: 241-244.

Dvorak CM, Lilla MP, Baker SR, Murtaugh MP. Multiple routes of porcine circovirus type 2 transmission to piglets in the presence of maternal immunity. *Vet Microbiol* 2013; 166: 365-374.

Dvorak CM, Yang Y, Haley C, Sharma N, Murtaugh MP. National reduction in porcine circovirus type 2 prevalence following introduction of vaccination. *Vet Microbiol* 2016; 189: 86-90.

Eddicks M, Fux R, Szikora F, Eddicks L, Majzoub-Altweck M, Hermanns W, Sutter G, Palzer A, Banholzer E, Ritzmann M. Detection of a new cluster of porcine circovirus type 2b strains in domestic pigs in Germany. *Vet Microbiol* 2015; 176: 337-343.

Eddicks M, Koeppen M, Willi S, Fux R, Reese S, Sutter G, Stadler J, Ritzmann M. Low prevalence of porcine circovirus type 2 infections in farrowing sows and corresponding pre-suckling piglets in southern German pig farms. *Vet Microbiol* 2016; 187: 70-74.

Ellis J, Hassard L, Clark E, Harding J, Allan G, Willson P, Strokappe J, Martin K, McNeilly F, Meehan B, Todd D, Haines D. Isolation of circovirus from lesions of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can Vet J* 1998; 39: 44-51.

Faurez F, Dory D, Grasland B, Jestin A. Replication of porcine circoviruses. *Virol J* 2009; 6: 60.

Feng H, Blanco G, Segales J, Sibila M. Can Porcine circovirus type 2 (PCV2) infection be eradicated by mass vaccination? *Vet Microbiol* 2014; 172: 92-99.

Finlaison D, Kirkland P, Luong R, Ross A. Survey of porcine circovirus 2 and postweaning multisystemic wasting syndrome in New South Wales piggeries. *Aust Vet J* 2007; 85: 304-310.

Fort M, Sibila M, Allepuz A, Mateu E, Roerink F, Segales J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination of conventional pigs prevents viremia against PCV2 isolates of different genotypes and geographic origins. *Vaccine* 2008; 26: 1063-1071.

Franzo G, Cortey M, Olvera A, Novosel D, Castro AM, Biagini P, Segales J, Drigo M. Revisiting the taxonomical classification of Porcine Circovirus type 2 (PCV2): still a real challenge. *Virol J* 2015a; 12: 131.

Franzo G, Cortey M, de Castro AM, Piovezan U, Szabo MP, Drigo M, Segales J, Richtzenhain LJ. Genetic characterisation of Porcine circovirus type 2 (PCV2) strains from feral pigs in the Brazilian Pantanal: An opportunity to reconstruct the history of PCV2 evolution. *Vet Microbiol* 2015b; 178: 158-162.

Gagnon CA, Tremblay D, Tijssen P, Venne MH, Houde A, Elahi SM. The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *Can Vet J* 2007; 48: 811-819.

Gerber PF, Garrocho FM, Lana AMQ, Lobato ZIP. Serum antibodies and shedding of infectious porcine circovirus 2 into colostrum and milk of vaccinated and unvaccinated naturally infected sows. *Vet J* 2011; 188: 240-242.

Gerber PF, Garrocho FM, Lana AMQ, Lobato ZIP. Fetal infections and antibody profiles in pigs naturally infected with porcine circovirus type 2 (PCV2). *Can J Vet Res* 2012; 76: 38-44.

Grau-Roma L, Segales J. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus, porcine circovirus type 2, swine influenza virus and Aujeszky's disease virus in cases of porcine proliferative and necrotizing pneumonia (PNP) in Spain. *Vet Microbiol* 2007; 119: 144-151.

Grau-Roma L, Hjulsgaard CK, Sibila M, Kristensen CS, Lopez-Soria S, Enøe C, Casal J, Botner A, Nofrarias M, Bille-Hansen V, Fraile L, Baekbo P, Segales J, Larsen LE. Infection, excretion and seroconversion dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) in pigs from post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) affected farms in Spain and Denmark. *Vet Microbiol* 2009; 135: 272-282.

Guo LJ, Lu YH, Wei YW, Huang LP, Liu CM. Porcine circovirus type 2 (PCV2): genetic variation and newly emerging genotypes in China. *Virology* 2010; 7: 273.

Haake M, Palzer A, Rist B, Weissenbacher-Lang C, Fachinger V, Eggen A, Ritzmann M, Eddicks M. Influence of age on the effectiveness of PCV2 vaccination in piglets with high levels of maternally derived antibodies. *Vet Microbiol* 2014; 168: 272-280.

Hamel AL, Lin LL, Nayar GP. Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *J Virol* 1998; 72: 5262-5267.

Harding JC. The clinical expression and emergence of porcine circovirus 2. *Vet Microbiol* 2004; 98: 131-135.

Harding JCS, Clark EG. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health Prod* 1997; 5: 201-203.

Harding JCS, Clark EG, Strokappe JH, Willson PI, Ellis JA. Postweaning multisystemic wasting syndrome: Epidemiology and clinical presentation. *Swine Health Prod* 1998; 6: 249-254.

Harms PA, Halbur PG, Sorden SD. Three cases of porcine respiratory disease complex associated with porcine circovirus type 2 infection. *J Swine Health Prod* 2002; 10: 27-30.

Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res* 1996; 6: 986-994.

Helie P, Drolet R, Germain MC, Bourgault A. Systemic necrotizing vasculitis and glomerulonephritis in grower pigs in southwestern Quebec. *Can Vet J* 1995; 36: 150-154.

Jiang CG, Wang G, Tu YB, Liu YG, Wang SJ, Cai XH, An TQ. Genetic analysis of porcine circovirus type 2 in China. *Arch Virol* 2017; 162: 2715–2726.

Karuppannan AK, Opriessnig T. Porcine Circovirus Type 2 (PCV2) Vaccines in the Context of Current Molecular Epidemiology. *Viruses* 2017; 9: 99.

Kekarainen T, McCullough K, Fort M, Fossum C, Segales J, Allan GM. Immune responses and vaccine-induced immunity against Porcine circovirus type 2. *Vet Immunol Immunopathol* 2010; 136: 185-193.

Kekarainen T, Segales J. Porcine circovirus 2 immunology and viral evolution. *Porcine Health Manag* 2015; 1: 17.

Kim HB, Lyoo KS, Joo HS. Efficacy of different disinfectants in vitro against porcine circovirus type 2. *Vet Rec* 2009; 164: 599-600.

Kim J, Chung HK, Chae C. Association of porcine circovirus 2 with porcine respiratory disease complex. *Vet J* 2003; 166: 251-256.

Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Chae C. Enteritis associated with porcine circovirus 2 in pigs. *Can J Vet Res* 2004; 68: 218-221.

Kixmöller M, Ritzmann M, Eddicks M, Saalmüller A, Elbers K, Fachinger V. Reduction of PMWS-associated clinical signs and co-infections by vaccination against PCV2. *Vaccine* 2008; 26: 3443-3451.

Krakowka S, Ellis JA, Meehan B, Kennedy S, McNeilly F, Allan G. Viral wasting syndrome of swine: experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in gnotobiotic swine by coinfection with porcine circovirus 2 and porcine parvovirus. *Vet Pathol* 2000; 37: 254-263.

Kukushkin S, Okovytaya T. Seroprevalence of *Lawsonia intracellularis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and PCV2 in commercial pig farms in Russia. *Vet Rec* 2012; 171: 126.

Kurmann J, Sydler T, Brugnera E, Buergi E, Haessig M, Suter M, Sidler X. Vaccination of dams increases antibody titer and improves growth parameters in finisher pigs subclinically infected with porcine circovirus type 2. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 1644-1649.

Kwon T, Lee DU, Yoo SJ, Je SH, Shin JY, Lyoo YS. Genotypic diversity of porcine circovirus type 2 (PCV2) and genotype shift to PCV2d in Korean pig population. *Virus Res* 2017; 228: 24-29.

Larochelle R, Magar R, D'Allaire S. Comparative serologic and virologic study of commercial swine herds with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *Can J Vet Res* 2003; 67: 114-120.

Lefebvre DJ, Meerts P, Costers S, Misinzo G, Barbe F, Van Reeth K, Nauwynck HJ. Increased porcine circovirus type 2 replication in porcine leukocytes in vitro and in vivo by concanavalin A stimulation. *Vet Microbiol* 2008; 132: 74-86.

Liu J, Chen I, Kwang J. Characterization of a previously unidentified viral protein in porcine circovirus type 2-infected cells and its role in virus-induced apoptosis. *J Virol* 2005; 79: 8262-8274.

Liu J, Chen I, Du Q, Chua H, Kwang J. The ORF3 protein of porcine circovirus type 2 is involved in viral pathogenesis in vivo. *J Virol* 2006; 80: 5065-5073.

Lopez-Rodriguez A, Dewulf J, Meyns T, Del-Pozo-Sacristan R, Andreoni C, Goubier A, Chapat L, Charreyre C, Joisel F, Maes D. Effect of sow vaccination against porcine circovirus type 2 (PCV2) on virological profiles in herds with or without PCV2 systemic disease. *Can Vet J* 2016; 57: 619-628.

Lopez-Soria S, Maldonado J, Riera P, Nofrarias M, Espinal A, Valero O, Blanchard P, Jestin A, Casal J, Domingo M, Artigas C, Segales J. Selected Swine viral pathogens in indoor pigs in Spain. Seroprevalence and farm-level characteristics. *Transbound Emerg Dis* 2010; 57: 171-179.

Lukert P, De Boer G, Dale J, Keese PK, McNulty M, Randles JW, Tischer I. The Circoviridae. In: *Virus Taxonomy. Sixth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Murphy F, Fauquet C, Bishop D, Ghabrial S, Jarvis A, Martelli G, Mayo M, Summers M, eds.: Springer-Verlag 1995: 166-168.

Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 1292-1305.

Madec F, Rose N, Grasland B, Cariolet R, Jestin A. Post-weaning multisystemic wasting syndrome and other PCV2-related problems in pigs: a 12-year experience. *Transbound Emerg Dis* 2008; 55: 273-283.

Madson DM, Patterson AR, Ramamoorthy S, Pal N, Meng XJ, Opriessnig T. Reproductive failure experimentally induced in sows via artificial insemination with semen spiked with porcine circovirus type 2. *Vet Pathol* 2009; 46: 707-716.

Magar R, Larochelle R, Thibault S, Lamontagne L. Experimental transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2) in weaned pigs: a sequential study. *J Comp Pathol* 2000a; 123: 258-269.

Magar R, Muller P, Larochelle R. Retrospective serological survey of antibodies to porcine circovirus type 1 and type 2. *Can J Vet Res* 2000b; 64: 184-186.

Majzoub M, Ritzmann I, Truyen U, Matiasek K, Heinritzi K, Hermanns W. Porzines Dermatitis-Nephropathie-Syndrom (PDNS) – eine Übersicht über pathomorphologische Veränderungen. *Tierärztliche Praxis Großtiere* 2005; 33: 169-174.

Mandrioli L, Sarli G, Panarese S, Baldoni S, Marcato PS. Apoptosis and proliferative activity in lymph node reaction in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet Immunol Immunopathol* 2004; 97: 25-37.

Mankertz A, Caliskan R, Hattermann K, Hillenbrand B, Kurzendoerfer P, Mueller B, Schmitt C, Steinfeldt T, Finsterbusch T. Molecular biology of Porcine circovirus: analyses of gene expression and viral replication. *Vet Microbiol* 2004; 98: 81-88.

Martelli P, Ferrari L, Morganti M, De Angelis E, Bonilauri P, Guazzetti S, Caleffi A, Borghetti P. One dose of a porcine circovirus 2 subunit vaccine induces humoral and cell-mediated immunity and protects against porcine circovirus-associated disease under field conditions. *Vet Microbiol* 2011; 149: 339-351.

McIntosh KA, Harding JCS, Ellis JA, Appleyard GD. Detection of Porcine circovirus type 2 viremia and seroconversion in naturally infected pigs in a farrow-to-finish barn. *Can J Vet Res* 2006; 70: 58-61.

McIntosh KA, Harding JC, Parker S, Krakowka S, Allan G, Ellis JA. Quantitative polymerase chain reaction for Porcine circovirus-2 in swine feces in a Porcine circovirus disease-affected commercial herd and a nonaffected commercial herd. *Can Vet J* 2008; 49: 1189-1194.

McKeown NE, Opriessnig T, Thomas P, Guenette DK, Elvinger F, Fenaux M, Halbur PG, Meng XJ. Effects of porcine circovirus type 2 (PCV2) maternal antibodies on experimental infection of piglets with PCV2. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12: 1347-1351.

McNeilly F, Kennedy S, Moffett D, Meehan BM, Foster JC, Clarke EG, Ellis JA, Haines DM, Adair BM, Allan GM. A comparison of in situ hybridization and immunohistochemistry for the detection of a new porcine circovirus in formalin-fixed tissues from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J Virol Methods* 1999; 80: 123-128.

Meehan BM, McNeilly F, Todd D, Kennedy S, Jewhurst VA, Ellis JA, Hassard LE, Clark EG, Haines DM, Allan GM. Characterization of novel circovirus DNAs associated with wasting syndromes in pigs. *J Gen Virol* 1998; 79: 2171-2179.

Meng XJ. Porcine circovirus type 2 (PCV2): pathogenesis and interaction with the immune system. *Annu Rev Anim Biosci* 2013; 1: 43-64.

Monger VR, Stegeman JA, Koop G, Dukpa K, Tenzin T, Loeffen WL. Seroprevalence and associated risk factors of important pig viral diseases in Bhutan. *Prev Vet Med* 2014; 117: 222-232.

Monroy MAR, Galvis JDM, Ramirez-Nieto GC, Vera VJ, Correa JJ. Dynamics of porcine circovirus type 2 infection and neutralizing antibodies in subclinically infected gilts, and the effect on their litters. *Rev Colomb Cienc Pecu* 2015; 28: 218-228.

Morin M, Girard C, Elazhary Y, Fajardo R, Drolet R, Lagace A. Severe proliferative and necrotizing pneumonia in pigs - a newly recognized disease. *Can Vet J* 1990; 31: 837-839.

Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 1987; 155: 335-350.

Nauwynck HJ, Sanchez R, Meerts P, Lefebvre DJ, Saha D, Huang L, Misinzo G. Cell tropism and entry of porcine circovirus 2. *Virus Res* 2012; 164: 43-45.

Nawagitgul P, Morozov I, Sirinarumitr T, Sorden SD, Paul PS. Development of probes to differentiate porcine circovirus types 1 and 2 in vitro by in situ hybridization. *Vet Microbiol* 2000a; 75: 83-89.

Nawagitgul P, Morozov I, Bolin SR, Harms PA, Sorden SD, Paul PS. Open reading frame 2 of porcine circovirus type 2 encodes a major capsid protein. *J Gen Virol* 2000b; 81: 2281-2287.

O'Neill KC, Hemann M, Gimenez-Lirola LG, Halbur PG, Opriessnig T. Vaccination of sows reduces the prevalence of PCV-2 viraemia in their piglets under field conditions. *Vet Rec* 2012; 171: 425.

Oh Y, Seo HW, Han K, Park C, Chae C. Protective effect of the maternally derived porcine circovirus type 2 (PCV2)-specific cellular immune response in piglets by dam vaccination against PCV2 challenge. *J Gen Virol* 2012; 93: 1556-1562.

Okuda Y, Ono M, Yazawa S, Shibata I. Experimental reproduction of postweaning multisystemic wasting syndrome in cesarean-derived, colostrum-deprived piglets inoculated with porcine circovirus type 2 (PCV2): investigation of quantitative PCV2 distribution and antibody responses. *J Vet Diagn Invest* 2003; 15: 107-114.

Olvera A, Sibila M, Calsamiglia M, Segales J, Domingo M. Comparison of porcine circovirus type 2 load in serum quantified by a real time PCR in postweaning multisystemic wasting syndrome and porcine dermatitis and nephropathy syndrome naturally affected pigs. *J Virol Methods* 2004; 117: 75-80.

Olvera A, Cortey M, Segales J. Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes: Phylogeny and clonality. *Virology* 2007; 357: 175-185.

Opriessnig T, Meng XJ, Halbur PG. Porcine circovirus type 2 associated disease: update on current terminology, clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis, and intervention strategies. *J Vet Diagn Invest* 2007; 19: 591-615.

Opriessnig T, Patterson AR, Elsener J, Meng XJ, Halbur PG. Influence of maternal antibodies on efficacy of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination to protect pigs from experimental infection with PCV2. *Clin Vaccine Immunol* 2008a; 15: 397-401.

Opriessnig T, Madson DM, Prickett JR, Kuhar D, Lunney JK, Elsener J, Halbur PG. Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccination on porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) and PCV2 coinfection. *Vet Microbiol* 2008b; 131: 103-114.

Opriessnig T, Xiao CT, Gerber PF, Halbur PG. Emergence of a novel mutant PCV2b variant associated with clinical PCVAD in two vaccinated pig farms in the U.S. concurrently infected with PPV2. *Vet Microbiol* 2013; 163: 177-183.

Opriessnig T, Langohr I. Current state of knowledge on porcine circovirus type 2-associated lesions. *Vet Pathol* 2013; 50: 23-38.

Ostanello F, Caprioli A, Di Francesco A, Battilani M, Sala G, Sarli G, Mandrioli L, McNeilly F, Allan GM, Prosperi S. Experimental infection of 3-week-old conventional colostrum-fed pigs with porcine circovirus type 2 and porcine parvovirus. *Vet Microbiol* 2005; 108: 179-186.

Park JS, Kim J, Ha Y, Jung K, Choi C, Lim JK, Kim SH, Chae C. Birth abnormalities in pregnant sows infected intranasally with porcine circovirus 2. *J Comp Pathol* 2005; 132: 139-144.

Patterson AR, Ramamoorthy S, Madson DM, Meng XJ, Halbur PG, Opriessnig T. Shedding and infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) after experimental infection. *Vet Microbiol* 2011; 149: 91-98.

Prickett JR, Johnson J, Murtaugh MP, Puvanendiran S, Wang C, Zimmerman JJ, Opriessnig T. Prolonged detection of PCV2 and anti-PCV2 antibody in oral fluids following experimental inoculation. *Transbound Emerg Dis* 2011; 58: 121-127.

Ramirez-Mendoza H, Castillo-Juarez H, Hernandez J, Correa P, Segales J. Retrospective serological survey of Porcine circovirus-2 infection in Mexico. *Can J Vet Res* 2009; 73: 21-24.

Reiner G, Willems H. Porcines Circovirus 2 (PCV2) – Zusammenhänge zwischen Sequenz, Funktion und Virulenz. *Dtsch Tierärztl Wochenschr* 2008; 115: 449-456.

Rodriguez-Arrioja GM, Segales J, Calsamiglia M, Resendes AR, Balasch M, Plana-Duran J, Casal J, Domingo M. Dynamics of porcine circovirus type 2 infection in a herd of pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome. *Am J Vet Res* 2002; 63: 354-357.

Rosario K, Breitbart M, Harrach B, Segales J, Delwart E, Biagini P, Varsani A. Revisiting the taxonomy of the family Circoviridae: establishment of the genus Cyclovirus and removal of the genus Gyrovirus. *Arch Virol* 2017; 162: 1447-1463.

Rose N, Opriessnig T, Grasland B, Jestin A. Epidemiology and transmission of porcine circovirus type 2 (PCV2). *Virus Res* 2012; 164: 78-89.

Rosell C, Segalés J, Plana-Duran J, Balasch M, Rodriguez-Arrioja GM, Kennedy S, Allan GM, McNeilly F, Latimer KS, Domingo M. Pathological, immunohistochemical, and in-situ hybridization studies of natural cases of postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. *J Comp Pathol* 1999; 120: 59-78.

Rosell C, Segales J, Ramos-Vara JA, Folch JM, Rodriguez-Arrioja GM, Duran CO, Balasch M, Plana-Duran J, Domingo M. Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet Rec* 2000; 146: 40-43.

Sanchez REJ, Nauwynck HJ, McNeilly F, Allan GM, Pensaert MB. Porcine circovirus 2 infection in swine foetuses inoculated at different stages of gestation. *Vet Microbiol* 2001; 83: 169-176.

Sanchez REJ, Meerts P, Nauwynck HJ, Ellis JA, Pensaert MB. Characteristics of porcine circovirus-2 replication in lymphoid organs of pigs inoculated in late gestation or postnatally and possible relation to clinical and pathological outcome of infection. *J Vet Diagn Invest* 2004; 16: 175-185.

Sarli G, Mandrioli L, Laurenti M, Sidoli L, Cerati C, Rolla G, Marcato PS. Immunohistochemical characterisation of the lymph node reaction in pig post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 83: 53-67.

Segalés J, Sitjar M, Domingo M, Dee S, Del Pozo M, Noval R, Sacristan C, De las Heras A, Ferro A, Latimer KS. First report of post-weaning multisystemic wasting syndrome in pigs in Spain. *Vet Rec* 1997; 141: 600-601.

Segalés J, Piella J, Marco E, Mateu-de-Antonio EM, Espuna E, Domingo M. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome in Spain. *Vet Rec* 1998; 142: 483-486.

Segalés J, Alonso F, Rosell C, Pastor J, Chianini F, Campos E, Lopez-Fuertes L, Quintana J, Rodriguez-Arrioja G, Calsamiglia M, Pujols J, Dominguez J, Domingo M. Changes in peripheral blood leukocyte populations in pigs with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet Immunol Immunopathol* 2001; 81: 37-44.

Segalés J, Domingo M. Postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) in pigs. A review. *Vet Q* 2002; 24: 109-124.

Segalés J, Domingo M, Chianini F, Majo N, Dominguez J, Darwich L, Mateu E. Immunosuppression in postweaning multisystemic wasting syndrome affected pigs. *Vet Microbiol* 2004; 98: 151-158.

Segalés J, Allan GM, Domingo M. Porcine circovirus diseases. *Anim Health Res Rev* 2005a; 6: 119-142.

Segalés J, Calsamiglia M, Olvera A, Sibila M, Badiella L, Domingo M. Quantification of porcine circovirus type 2 (PCV2) DNA in serum and tonsillar, nasal, tracheo-bronchial, urinary and faecal swabs of pigs with and without postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet Microbiol* 2005b; 111: 223-229.

Segalés J, Olvera A, Grau-Roma L, Charreyre C, Nauwynck H, Larsen L, Dupont K, McCullough K, Ellis J, Krakowka S, Mankertz A, Fredholm M, Fossum C, Timmusk S, Stockhofe-Zurwieden N, Beattie V, Armstrong D, Grassland B, Baekbo P, Allan G. PCV-2 genotype definition and nomenclature. *Vet Rec* 2008; 162: 867-868.

Segalés J. Porcine circovirus type 2 (PCV2) infections: clinical signs, pathology and laboratory diagnosis. *Virus Res* 2012; 164: 10-19.

Shen H, Wang C, Madson DM, Opriessnig T. High prevalence of porcine circovirus viremia in newborn piglets in five clinically normal swine breeding herds in North America. *Prev Vet Med* 2010; 97: 228-236.

Shibata I, Okuda Y, Yazawa S, Ono M, Sasaki T, Itagaki M, Nakajima N, Okabe Y, Hidejima I. PCR detection of Porcine circovirus type 2 DNA in whole blood, serum, oropharyngeal swab, nasal swab, and feces from experimentally infected pigs and field cases. *J Vet Med Sci* 2003; 65: 405-408.

Sibila M, Calsamiglia M, Segales J, Blanchard P, Badiella L, Le Dimna M, Jestin A, Domingo M. Use of a polymerase chain reaction assay and an ELISA to monitor porcine circovirus type 2 infection in pigs from farms with and without postweaning multisystemic wasting syndrome. *Am J Vet Res* 2004; 65: 88-92.

Sinha A, Shen HG, Schalk S, Beach NM, Huang YW, Meng XJ, Halbur PG, Opriessnig T. Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) influences infection dynamics of porcine circovirus type 2 (PCV2) subtypes PCV2a and PCV2b by prolonging PCV2 viremia and shedding. *Vet Microbiol* 2011; 152: 235-246.

Sorden SD, Harms PA, Nawagitgul P, Cavanaugh D, Paul PS. Development of a polyclonal-antibody-based immunohistochemical method for the detection of type 2 porcine circovirus in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *J Vet Diagn Invest* 1999; 11: 528-530.

Sorden SD. Update on porcine circovirus and postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Swine Health Prod* 2000; 8: 133-136.

Thacker EL. Immunology of the porcine respiratory disease complex. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2001; 17: 551-565.

Thibault S, Drolet R, Germain MC, D'Allaire S, Larochelle R, Magar R. Cutaneous and systemic necrotizing vasculitis in swine. *Vet Pathol* 1998; 35: 108-116.

Thomson JR, Higgins RJ, Smith WJ, Done SH. Porcine dermatitis and nephropathy syndrome. clinical and pathological features of cases in the United Kingdom (1993-1998). *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2002; 49: 430-437.

Tischer I, Rasch R, Tochtermann G. Characterization of papovavirus-and picornavirus-like particles in permanent pig kidney cell lines. *Zentralbl Bakteriol Orig A* 1974; 226: 153-167.

Tischer I, Gelderblom H, Vettermann W, Koch MA. A very small porcine virus with circular single-stranded DNA. *Nature* 1982; 295: 64-66.

Vincent IE, Carrasco CP, Herrmann B, Meehan BM, Allan GM, Summerfield A, McCullough KC. Dendritic cells harbor infectious porcine circovirus type 2 in the absence of apparent cell modulation or replication of the virus. *J Virol* 2003; 77: 13288-13300.

Walker IW, Konoby CA, Jewhurst VA, McNair I, McNeilly F, Meehan BM, Cottrell TS, Ellis JA, Allan GM. Development and application of a competitive enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of serum antibodies to porcine circovirus type 2. *J Vet Diagn Invest* 2000; 12: 400-405.

Wellenberg GJ, Stockhofe-Zurwieden N, de Jong MF, Boersma WJ, Elbers AR. Excessive porcine circovirus type 2 antibody titres may trigger the development of porcine dermatitis and nephropathy syndrome: a case-control study. *Vet Microbiol* 2004; 99: 203-214.

Welti S, Sydler T, Wiederkehr D, Pospischil A, Hässig M, Bürgi E, Sidler X. Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome (PMWS) und Porcine Dermatitis and Nephropathy Syndrome (PDNS) in der Schweiz in den Jahren 2003 – 2006. *Schweiz Arch Tierheilkd* 2012; 154: 417-427.

Wiederkehr DD, Sydler T, Buergi E, Haessig M, Zimmermann D, Pospischil A, Brugnera E, Sidler X. A new emerging genotype subgroup within PCV-2b dominates the PMWS epizooty in Switzerland. *Vet Microbiol* 2009; 136: 27-35.

Xiao CT, Halbur PG, Opriessnig T. Complete genome sequence of a novel porcine circovirus type 2b variant present in cases of vaccine failures in the United States. *J Virol* 2012; 86: 12469.

Xiao CT, Halbur PG, Opriessnig T. Global molecular genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) sequences confirms the presence of four main PCV2 genotypes and reveals a rapid increase of PCV2d. *J Gen Virol* 2015; 96: 1830-1841.

Xiao CT, Harmon KM, Halbur PG, Opriessnig T. PCV2d-2 is the predominant type of PCV2 DNA in pig samples collected in the US during 2014-2016. *Vet Microbiol* 2016; 197: 72-77.

Yoon IJ, Joo H, Christianson WT, Morrison RB, Dial GD. Persistent and contact infection in nursery pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. *Swine Health Prod* 1993; 1: 5-8.

Yu S, Opriessnig T, Kitikoon P, Nilubol D, Halbur PG, Thacker E. Porcine circovirus type 2 (PCV2) distribution and replication in tissues and immune cells in early infected pigs. *Vet Immunol Immunopathol* 2007; 115: 261-272.

Zhao K, Han FT, Zou Y, Zhu LL, Li CH, Xu Y, Zhang CL, Tan FR, Wang JB, Tao SR, He XZ, Zhou ZQ, Tang XM. Rapid detection of porcine circovirus type 2 using a TaqMan-based real-time PCR. *Virology* 2010; 7: 374.

IX. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Anteil der PCV2-DNA positiven Untersuchungsmaterialien (Speichel, Kot und Serum) in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe.</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 2: Die Wochengruppen 1 bis 8 sind zusammengefasst dargestellt: niedertragende Sauen (2., 5., u. 7. Trächtigkeitswoche), hochtragende Sauen (10., 12., u. 15. Trächtigkeitswoche) und Sauen in der Abferkelung (2. und 4. Woche p. p.). Dargestellt ist der Anteil der PCV2-DNA positiven Untersuchungsmaterialien (Speichel, Kot und Serum) in Abhängigkeit von den vereinfachten Wochengruppen. Die Jungsauen in der Quarantäne (QS) sind in dieser Darstellung nicht berücksichtigt.</i>	<i>37</i>
<i>Abbildung 3: Anteile der PCV2-seropositiven und PCV2-seronegativen Proben unter Berücksichtigung der Paritätsgruppe.</i>	<i>39</i>
<i>Abbildung 4: Anteile der PCV2-seropositiven und PCV2-seronegativen Proben unter Berücksichtigung der Wochengruppe.</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 5: Anteile der PCV2-seropositiven und PCV2-seronegativen Proben unter Berücksichtigung der vereinfachten Wochengruppen. Die unterschiedlichen Buchstaben a, b und b' kennzeichnen signifikante Unterschiede (a und b: $p < 0,001$), (a und b': $p = 0,012$).</i>	<i>41</i>
<i>Abbildung 6: Anteile der PCV2-positiven Untersuchungsmaterialien (Serum, Speichel und Kot) in Abhängigkeit des IgG-Antikörperstatus der Sauen. Die Buchstaben a und b kennzeichnen signifikante Unterschiede ($p = 0,005$).</i>	<i>42</i>

X. TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Produktionsstatus der Sauengruppen zum Zeitpunkt der Beprobung.</i>	23
<i>Tabelle 2: Primer und Sonde der modifizierten real-time PCR nach ZHAO et al. (2010).</i>	26
<i>Tabelle 3: Temperaturprotokoll der PCR.</i>	26
<i>Tabelle 4: Studienpopulation aufgeteilt nach der Parität je Wochengruppe.</i>	30
<i>Tabelle 5: Anzahl (n) und Anteil (%) der Sauen unter Berücksichtigung ihrer jeweiligen Paritätsgruppe.</i>	31
<i>Tabelle 6: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Seren auf PCV2-DNA in Genomkopien/ml (c/ml) in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe (PG).</i>	33
<i>Tabelle 7: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Speichelproben auf PCV2-DNA in Genomkopien/ml (c/ml) in Abhängigkeit von der Paritätsgruppe (PG).</i>	34
<i>Tabelle 8: Anteil PCV2-DNA positiver Serum-, Speichel-, und Kotproben von Sauen aus der jeweiligen Wochengruppe sowie die untersuchte Probenanzahl (n) pro Gruppe.</i>	36
<i>Tabelle 9: Ergebnisse der molekularbiologischen Untersuchung der Seren auf PCV2-DNA in Genomkopien/ml (c/ml) in Abhängigkeit von der vereinfachten Wochengruppe (WG).</i>	38

XI. DANKSAGUNG

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Mathias Ritzmann für die Überlassung des Themas, die umfassende Unterstützung beim Anfertigen meiner Dissertation und für die schöne Zeit, die ich an der Klinik für Schweine hatte.

Ein großes Dankeschön geht an meinen Betreuer Herrn Dr. Matthias Eddicks. Vielen Dank für die wissenschaftliche Betreuung meiner Dissertation, das stets offene Ohr für meine Anliegen und die motivierenden Worte in kritischen Momenten.

Besonderer Dank gebührt Herrn Dr. Robert Fux und den Mitarbeitern des Lehrstuhls für Virologie der LMU München. Vor allem danke ich Dr. Robert Fux für den unermüdlichen Einsatz beim Auswerten der Proben und die wertvolle Hilfe bei kleineren und größeren Problemen. Danke auch an Andrea, Christine und Elena, die mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Vielen Dank an PD Dr. med. vet. Sven Reese für die Hilfe bei der statistischen Planung dieser Studie.

Teile dieser Arbeit wurden im Rahmen des European PCV2-Awards (Firma Boehringer Ingelheim Animal Health) finanziell unterstützt wofür ich mich herzlich bedanken möchte.

Ich danke der tierärztlichen Gemeinschaftspraxis in Büren für ihre Unterstützung und Mithilfe bei der Betriebssuche. Ebenso danke ich dem Landwirt meines Studienbetriebs für das entgegengebrachte Vertrauen und die außerordentliche Gastfreundschaft vor Ort. Ohne Landwirte, die uns die Stalltüren öffnen und uns das Vertrauen schenken, wären solche Studien nicht möglich.

Ein ganz besonderer Dank geht an meine Kolleginnen und Kollegen der Klinik für Schweine. Vielen Dank für die tatkräftige Unterstützung sowohl im Stall als auch am Schreibtisch. Steffi, Christine R., Christine W. und Jasmin, ein großes Dankeschön für eure Hilfe auch in der Not. Sophie, vielen Dank für deine Gesellschaft an so manchem Sonntag in der Klinik. Danke für die schöne Zeit an der Klinik, eure Kollegialität und Freundschaft!

Liebe Feli, liebe Kathrin – ich danke euch für eure aufmunternden Worte, für jede Essenseinladung in stressigen Zeiten und vor allem danke ich euch für eure Freundschaft.

Und zu guter Letzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken. Danke liebe Manu, dass du mich von jeglichen familiären Verpflichtungen, vor allem in der Endphase dieser Doktorarbeit, entbunden hast. Danke Dirk für deine Unterstützung und dafür, dass du an meiner Seite bist und ich mich immer auf dich verlassen kann. Der größte Dank gilt meinen Eltern: Danke, dass ihr meinen Weg nie in Frage gestellt habt und immer an mich geglaubt habt.